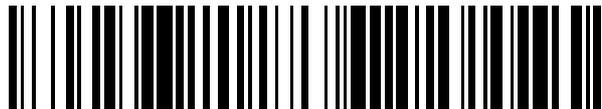


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 810 755**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 47/68 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.11.2016 PCT/US2016/063990**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.06.2017 WO17095805**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.11.2016 E 16819220 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 3383909**

54 Título: **Conjugados fármaco-anticuerpo anti-Irrc15 humano y métodos para su uso**

30 Prioridad:

30.11.2015 US 201562261092 P
04.11.2016 US 201662417480 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
09.03.2021

73 Titular/es:

ABBVIE INC. (50.0%)
1 North Waukegan Road
North Chicago, IL 60064, US y
ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

GISH, KURT C.;
HICKSON, JONATHAN A.;
PURCELL, JAMES W. y
MORGAN-LAPPE, SUSAN ELIZABETH

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 810 755 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Conjugados fármaco-anticuerpo anti-Lrrc15 humano y métodos para su uso

5 3. Campo

La presente solicitud se refiere, entre otras cosas, a anticuerpos anti-huLRRC15, conjugados fármaco-anticuerpo ("ADC"), composiciones que incluyen los ADC, métodos para elaborar los ADC y métodos para usar los ADC para tratar cánceres.

10 4. Antecedentes

Las terapias contra el cáncer comprenden una amplia gama de enfoques terapéuticos, que incluyen cirugía, radiación y quimioterapia. Si bien los enfoques complementarios a menudo permiten que el médico disponga de una amplia selección para el tratamiento del cáncer, las terapias existentes poseen una serie de desventajas, como la falta de selectividad para dirigirse a las células cancerosas con preferencia sobre las células normales y sanas, y el desarrollo de resistencia del cáncer al tratamiento.

Los enfoques recientes basados en terapias dirigidas, que interfieren con los procesos celulares de las células cancerosas con preferencia sobre las células normales, llevaron a regímenes quimioterapéuticos con menos efectos secundarios en comparación con las terapias no dirigidas, como el tratamiento con radiación. Sin embargo, los cánceres que se tratan con terapias dirigidas aún pueden desarrollar resistencia. Por ejemplo, la resistencia a bevacizumab, un anticuerpo terapéutico monoclonal dirigido a células cancerosas positivas para VEGF, se informó en algunos cánceres colorrectales (Mesange y otros *Oncotarget* 2014; 5 (13): 4709-4721).

Un mecanismo para la resistencia al tratamiento se cree que es la formación por los fibroblastos activados (por ejemplo, fibroblastos asociados al cáncer (CAF), de células madre mesenquimales (MSC)) en el microambiente tumoral que impide que los fármacos contra el cáncer alcancen físicamente las células cancerosas (Kalluri R., *Nature Reviews Cancer* 2016; 16: 582-598). Además, se entiende que la barrera del estroma mediada por fibroblastos da lugar a un entorno inmunosupresor que puede evitar que las células inmunes efectoras penetren profundamente en el tumor y se dirijan a las células cancerosas (Turley, SJ *Nature Reviews Immunology* 2015; 15: 669-682). Por lo tanto, un fármaco contra el cáncer dirigido a estas poblaciones de fibroblastos estromales dentro del microambiente tumoral complementaría las estrategias terapéuticas existentes y podría superar la quimiorresistencia y aumentar la sensibilidad a las terapias inmunomediadas.

Se cree que otra fuente de resistencia al tratamiento es la plasticidad de las células cancerosas. Por ejemplo, la plasticidad de las células cancerosas entre los estados epitelial y mesenquimatoso está implicada como un mecanismo para la generación de células madre cancerosas, que pueden iniciar tumores y servir como punto de partida para la metástasis. Ver Ye, X.; Weinberg, RA *Trends in Cell Biology* 2015; 25 (11): 675-686. Además, se informó que las células cancerosas mesenquimales son resistentes a las terapias estándares contra el cáncer, como el docetaxel. Ver Singh y Settleman. *Oncogene* 2010; 29 (34): 4741-4751; Ippolito, L. y otros *Oncotarget* 2016; 7 (38): 61890-61904. Una terapia contra el cáncer efectiva contra estas células cancerosas resistentes complementaría los enfoques terapéuticos existentes.

Por lo tanto, las terapias contra el cáncer que discriminan mejor las células normales y son menos propensas a desarrollar resistencia clínica proporcionarían opciones adicionales para tratar el cáncer, como mejorar los regímenes estándares de atención existentes.

El documento WO2005094348 describe anticuerpos anti-LFL2 para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del cáncer.

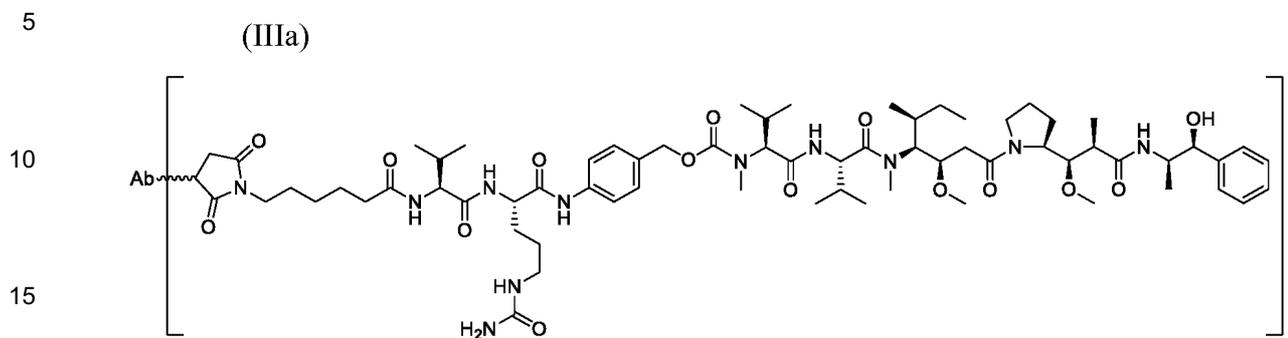
Schuetz y otros (*Cancer Research, American Association for Cancer Research* (2006) vol. 66, núm. 10, páginas 5278 - 5286) describe genes específicos de progresión identificados por el perfil de expresión de carcinomas ductales coincidentes in situ y tumores de mama invasivos, combinando microdissección por captura láser y análisis de microarreglos de oligonucleótidos.

Evans y otros (*Cancer Prevention Research* (2014) vol. 7, núm. 5, páginas 545 - 555) describe la clasificación de pacientes para cáncer de mama mediante la detección de autoanticuerpos contra un panel de antígenos portadores de conformación.

Purcell y otros (*European Journal of Cancer* (2016) vol. 69, páginas 32622-32623) describe ABBV-085, un conjugado de fármaco y anticuerpo (ADC) dirigido a LRRC15 en el microambiente tumoral.

5. Resumen

La presente invención proporciona un conjugado fármaco-anticuerpo anti-huLRRC15 ("ADC") que comprende un agente antimetabólico unido a un anticuerpo anti-huLRRC15 por medio de un conector, en donde el ADC tiene una estructura de fórmula (IIIa):



en donde:

n es un número entero que varía de 2 a 8;

Ab es un anticuerpo anti-huLRRC15 que comprende

una cadena V_H que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 16; y

una cadena V_L que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 17.

El LRRC15 humano (proteína 15 que contiene repetición rica en leucina) es una proteína de la superficie celular que se informó que existe en dos isoformas: una que contiene 587 aminoácidos (SEQ ID NO: 1; NP_001128529.2) y otra que contiene 581 aminoácidos (SEQ ID NO: 3; NP_570843.2) que carece de una parte del extremo N en comparación con la isoforma más larga de SEQ ID NO: 1. Las secuencias de aminoácidos de ambas isoformas se ilustran en las Figuras 1A-1D. Para facilitar la discusión, el LRRC15 humano se abrevia en la presente descripción como "huLRRC15". Esta abreviatura pretende referirse a cualquiera de las isoformas. En los casos en que se refiere una isoforma específica, se usan las abreviaturas "huLRRC151" y "huLRRC15s" para la isoforma más larga de SEQ ID NO: 1 y la isoforma más corta de SEQ ID NO: 3, respectivamente.

Con referencia a las Figuras 1C-1D (SEQ ID NO: 3), huLRRC15 comprende un dominio extracelular ("ECD") que abarca los residuos 22 a 538, un dominio transmembranal ("TMD") que abarca los residuos 539 a 559 y un dominio intracelular ("ICD") que abarca los residuos 560 a 581. La secuencia líder de huLRRC15, que se ilustra en las Figuras 1A-1B (SEQ ID NO: 1), se muestra en negrita y el dominio transmembranal subrayado, lo que indica el ECD, TMD e ICD de sus isoformas. En referencia nuevamente a las Figuras 1C-1D (SEQ ID NO: 3), el ECD contiene un sitio de escisión proteolítica aproximadamente entre los residuos Arg⁵²⁷ y Ser⁵²⁸, cuya escisión da como resultado la liberación de la porción del ECD que abarca aproximadamente los residuos 24-527 ("segmento ECD" o "sECD") desde la superficie celular y hacia el torrente sanguíneo. huLRRC15 se expresa altamente en el microambiente del estroma (y específicamente en fibroblastos asociados con el cáncer) de varios tumores sólidos (véase, por ejemplo, el Ejemplo 4 y la Figura 7), y exhibe una expresión limitada en tejidos de tipo normal (véase, por ejemplo, el Ejemplo 5 y la Figura 8). También se expresa en ciertas células cancerosas *per se* (por ejemplo, sarcomas, melanomas y glioblastomas, datos no mostrados). Los datos presentados en la presente descripción demuestran, por primera vez, que los conjugados fármaco-anticuerpo ("ADC") dirigidos específicamente a huLRRC15 exhiben potentes efectos antitumorales, tanto solos como en combinación con otras terapias antitumorales dirigidas y no dirigidas, contra tumores sólidos en los que huLRRC15 se expresa en el microambiente del estroma tumoral, pero no en las células cancerosas *per se* ((denominado en la presente descripción "tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-)"). Los datos que demuestran la eficacia antitumoral *in vivo* de los ADC anti-huLRRC15 administrados como monoterapia se proporcionan en el Ejemplo 10 y las Figuras 13A-13C. Aunque no se pretende estar sujeto a ninguna teoría de operación, se cree que este potente efecto antitumoral es mediado, al menos en parte, por un efecto dirigido de eliminación de células en la vecindad (véase, por ejemplo, el Ejemplo 12 y las Figuras 15A-15I y 17B), aunque la eliminación directa de las células del estroma que expresan huLRRC15 también puede desempeñar un papel. Esta potente actividad antitumoral se observa sorprendentemente con ADC anti-LRRC15 que se unen específicamente a la porción del dominio ECD de huLRRC15 que se libera de la superficie celular, y demuestra por primera vez que tales ADC anti-LRRC15 pueden usarse terapéuticamente para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-).

Se proporcionan los ADC que se unen específicamente a huLRRC15 ("ADC anti-huLRRC15"). Los ADC anti-huLRRC15 comprenden agentes citotóxicos y/o citostáticos unidos mediante enlaces a una porción de unión al antígeno que se une específicamente a huLRRC15 en una porción del ECD que se libera de la superficie celular. La porción de unión al antígeno puede ser cualquier porción capaz de unirse específicamente a huLRRC15. En algunas modalidades, la porción de unión al antígeno es un anticuerpo y/o un fragmento de anticuerpo de unión al antígeno.

Los anticuerpos y/o fragmentos de unión de los ADC anti-huLRRC15 generalmente comprenden una cadena pesada que comprende una región variable (V_H) que tiene tres regiones determinantes de complementariedad ("CDR") mencionadas en la presente descripción (en orden $N \rightarrow C$) como V_H CDR #1, V_H CDR #2, y V_H CDR #3, y una cadena ligera que comprende una región variable (V_L) que tiene tres regiones determinantes de complementariedad mencionadas en la presente descripción (en orden $N \rightarrow C$) como V_L CDR #1, V_L CDR #2 y V_L CDR #3. Las secuencias de aminoácidos de las CDR ilustrativas, así como también la secuencia de aminoácidos de las regiones V_H y V_L de las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos y/o fragmentos de unión que pueden incluirse en porciones de unión al antígeno de los ADC anti-huLRRC15 se proporcionan en la presente descripción. Los ADC anti-huLRRC15 incluyen, pero no se limitan a, aquellos que comprenden anticuerpos y/o fragmentos de unión que incluyen estas CDR ilustrativas y/o secuencias V_H y/o V_L , así como también anticuerpos y/o fragmentos de unión que compiten por la unión a huLRRC15 con tales anticuerpos y/o fragmentos de unión.

Los anticuerpos pueden estar en forma de anticuerpos de longitud completa, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos de dominio variable dual, anticuerpos de cadena múltiple o cadena simple, *surrobodyes* (incluyendo la construcción de cadena ligera sustituta), anticuerpos de dominio único, anticuerpos camelizados, anticuerpos scFv-Fc y similares. Pueden ser de, o derivar de cualquier isotipo, incluyendo, por ejemplo, IgA (por ejemplo, IgA_1 o IgA_2), IgD, IgE, IgG (por ejemplo, IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 o IgG_4), IgM o IgY. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-huLRRC15 es una IgG (por ejemplo, IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 o IgG_4). Los anticuerpos pueden ser de origen humano o no humano. Los ejemplos de origen no humano incluyen, entre otros, origen de mamíferos (por ejemplo, simios, roedores, cabras y conejos) u origen aviar (por ejemplo, pollos). En modalidades específicas, los anticuerpos de los ADC anti-huLRRC15 son adecuados para la administración a humanos, tales como, por ejemplo, anticuerpos humanizados y/o anticuerpos completamente humanos.

Los fragmentos de unión al antígeno del anticuerpo de los ADC anti-huLRRC15 pueden incluir cualquier fragmento de un anticuerpo capaz de unirse específicamente a huLRRC15. Los ejemplos específicos de fragmentos de unión al antígeno del anticuerpo que pueden incluirse en los ADC anti-huLRRC15 incluyen, pero no se limitan a, Fab, Fab', (Fab')₂, Fv y scFv.

Los anticuerpos y/o fragmentos de unión de los ADC anti-huLRRC15 pueden incluir modificaciones y/o mutaciones que alteran las propiedades de los anticuerpos y/o fragmentos, tal como los que aumentan la vida media, aumentan o disminuyen ADCC, etcétera, como se conoce en la técnica.

Para usos terapéuticos, puede ser conveniente utilizar ADC anti-huLRRC15 que se unan a huLRRC15 con una afinidad de al menos 100 nM. Por consiguiente, en algunas modalidades, los ADC anti-huLRRC15 comprenden un anticuerpo anti-huLRRC15 y/o un fragmento de unión anti-huLRRC15 que se une a huLRRC15 con una afinidad de al menos aproximadamente 100 nM, o incluso mayor, por ejemplo, al menos aproximadamente 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,1 nM, 0,01 nM o mayor. La afinidad de los anticuerpos anti-huLRRC15 y/o los fragmentos de unión pueden determinarse utilizando técnicas bien conocidas en la técnica o descritas en la presente descripción, como por ejemplo, ELISA, calorimetría de titulación isotérmica (ITC), resonancia de plasmón superficial, citometría de flujo o ensayo de polarización fluorescente.

Los agentes citotóxicos y/o citostáticos de los ADC anti-huLRRC15 pueden ser cualquier agente conocido por inhibir el crecimiento y/o la replicación y/o matar células. En la literatura se conocen numerosos agentes que tienen propiedades citotóxicas y/o citostáticas. Los ejemplos no limitantes de clases de agentes citotóxicos y/o citostáticos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, moduladores del ciclo celular, reguladores de apoptosis, inhibidores de quinasa, inhibidores de síntesis de proteínas, agentes alquilantes, agentes de entrecruzamiento de ADN, agentes intercaladores, inhibidores de la mitocondrias, inhibidores de exportación nuclear, inhibidores de topoisomerasa I, inhibidores de topoisomerasa II, antimetabolitos de ARN/ADN y agentes antimetabólicos.

Como se discutirá con más detalle en la descripción detallada, y aunque no se pretende estar sujeto a ninguna teoría particular de operación, los datos incluidos en la presente descripción demuestran que los ADC anti-huLRRC15 ejercen potentes actividades antitumorales mediadas, al menos en parte, por un efecto dirigido en la vecindad. Por ejemplo, se demuestra en la presente descripción que un ADC anti-huLRRC15 que comprende el inhibidor de microtúbulos monometil auristatina E ("MMAE") unido a un anticuerpo anti-huLRRC15 por medio de conectores escindibles por enzimas lisosomales inhibe y/o mata poderosamente los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-), sin embargo, no inhibe ni mata significativamente a los fibroblastos estromales que expresan huLRRC15 que se dividen más lentamente (véase, por ejemplo, el Ejemplo 12 y las Figuras 15B-15I y 16). Un ADC anti-huLRRC15 que comprende el inhibidor de microtúbulos monometil auristatina F ("MMAF") unido a un anticuerpo anti-huLRRC15 por medio de conectores no escindibles tuvo una potente actividad *in vitro* contra las células que expresan huLRRC15, pero tuvo poca eficacia contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) *in vivo* (véase, por ejemplo, el Ejemplo 12 y las Figuras 17A-17B). En conjunto, estos datos indican que los ADC anti-huLRRC15 pueden usarse para inhibir potentemente los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) a través de dos mecanismos de acción diferentes, o una combinación de ambos mecanismos: un primer mecanismo en el cual el agente citotóxico y/o los agentes citostáticos de los ADC anti-huLRRC15 son citotóxicos y/o citostáticos para las células del estroma que expresan huLRRC15 *per se*, lo que altera y/o destruye el microambiente del estroma crucial para mantenimiento y/o el crecimiento de los

tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-); y un segundo mecanismo en el cual los agentes citotóxicos y/o citostáticos de los ADC anti-huLRRC15 no son necesariamente citotóxicos y/o citostáticos para las células del estroma que expresan huLRRC15, pero son citostáticos y/o citotóxicos para las células huLRRC15 cáncer(-) que se dividen rápidamente. Los expertos en la técnica apreciarán que para este último mecanismo de acción, los agentes citotóxicos y/o citostáticos de los ADC anti-huLRRC15, una vez separados de los ADC anti-huLRRC15, deberían ser capaces de atravesar las membranas celulares. Para el primer mecanismo de acción, los agentes citotóxicos y/o citostáticos, una vez liberados del ADC anti-huLRRC15, no necesitan ser capaces de atravesar las membranas celulares. Los agentes citotóxicos y/o citostáticos que tienen hidrofobicidades suficientes para atravesar las membranas celulares de modo que sean útiles para inhibir y/o matar tumores a través de un efecto dirigido en la vecindad pueden identificarse utilizando métodos de rutina conocidos por los expertos en la técnica. Los agentes citotóxicos y/o citostáticos que tienen hidrofobicidades de manera que son capaces de atravesar las membranas celulares y penetrar en las células se denominan en la presente descripción "agentes citotóxicos y/o citostáticos que penetran en las células".

Los expertos en la técnica también apreciarán que los dos mecanismos de acción anteriores no son mutuamente excluyentes, y que en algunas modalidades puede ser conveniente utilizar ADC anti-huLRRC15 capaces de ejercer actividad antitumoral contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) a través de ambos mecanismos de acción. Como ejemplo específico, tal ADC anti-huLRRC15 puede incluir un agente citotóxico y/o citostático que penetra las células que es citotóxico y/o citostático tanto para las células estromales que expresan huLRRC15 como para las células tumorales huLRRC15 cáncer(-) unidas a un anticuerpo anti-huLRRC15 a través de un conector escindible. Como otra modalidad específica, dicho ADC anti-huLRRC15 puede incluir dos agentes citotóxicos y/o citostáticos diferentes: uno primero que es citotóxico y/o citostático para las células estromales que expresan huLRRC15 (y opcionalmente, pero no necesariamente, también citotóxico y/o citostático para las células tumorales huLRRC15 cáncer(-)); y un segundo que es citotóxico y/o citostático para las células estromales que expresan huLRRC15. El primer agente podría ser, pero no necesariamente, un agente citotóxico y/o citostático que penetra las células, y podría estar, pero no necesariamente, unido a la porción de unión al antígeno del ADC anti-huLRRC15 por medio de un conector escindible. El segundo agente es un agente citotóxico y/o citostático que penetra en las células y está unido a la porción de unión al antígeno del ADC anti-huLRRC15 por medio de un conector escindible.

Los agentes citotóxicos y/o citostáticos de un ADC anti-huLRRC15 incluyen agentes antimetabólicos que penetran en las células, tales como, por ejemplo, una auristatina. Los ejemplos específicos de auristatinas que penetran en las células incluyen, pero no se limitan a, dolastatina-10 y monometil auristatina E ("MMAE"). Los agentes citotóxicos y/o citostáticos alternativos de un ADC anti-huLRRC15 incluyen agentes de entrecruzamiento de ADN que penetran en las células, tales como un agente de entrecruzamiento de ADN que se une al surco menor que penetra en las células. Los ejemplos específicos de agentes de unión al surco menor de ADN que penetran en las células incluyen, pero no se limitan a, pirrolobenzodiazepinas ("PBD") y dímeros de PBD.

Los conectores que unen los agentes citotóxicos y/o citostáticos a la porción de unión al antígeno de un ADC anti-huLRRC15 pueden ser de naturaleza larga, corta, flexible, rígida, hidrófila o hidrófoba, o pueden comprender segmentos que tienen características diferentes, tales como segmentos de flexibilidad, segmentos de rigidez, etcétera. El conector puede ser químicamente estable en entornos extracelulares, por ejemplo, químicamente estable en el torrente sanguíneo, o puede incluir enlaces que no son estables y liberan los agentes citotóxicos y/o citostáticos en el medio extracelular. En algunas modalidades, los conectores incluyen enlaces que están diseñados para liberar los agentes citotóxicos y/o citostáticos después de la internalización del ADC anti-huLRRC15 en la célula. En algunas modalidades específicas, los conectores incluyen enlaces diseñados para escindirse y/o eliminarse o de otro modo descomponerse específicamente o no específicamente dentro de las células. En la técnica se conoce una amplia variedad de conectores útiles para unir fármacos a porciones de unión al antígeno tales como anticuerpos en el contexto de ADC. Puede usarse cualquiera de estos conectores, así como también otros conectores, para unir los agentes citotóxicos y/o citostáticos a la porción de unión al antígeno de los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción.

El número de agentes citotóxicos y/o citostáticos unidos a la porción de unión al antígeno de un ADC anti-huLRRC15 puede variar (denominado "relación fármaco a anticuerpo" o "DAR"), y estará limitado solo por el número de sitios de unión disponibles en la porción de unión al antígeno y el número de agentes unidos a un único conector. Típicamente, un conector unirá un único agente citotóxico y/o citostático a la porción de unión al antígeno de un ADC anti-huLRRC15. En los ADC anti-huLRRC15 que incluyen más de un agente citotóxico y/o citostático, cada agente puede ser igual o diferente. Siempre que el ADC anti-huLRRC 15 no exhiba niveles inaceptables de agregación bajo las condiciones de uso y/o almacenamiento, se contemplan los ADC anti-huLRRC15 con DAR de veinte, o incluso mayor. En el anti-huLRRC15, los ADC descritos en la presente descripción pueden tener una DAR en el rango de aproximadamente 1-10, 1-8, 1-6 o 1-4. En determinadas modalidades específicas, los ADC anti-huLRRC15 pueden tener un DAR de 2, 3 o 4.

Los ADC anti-huLRRC15 de la invención son compuestos de acuerdo con la fórmula estructural (I):



o sales de los mismos, donde cada "D" representa, independientemente de los demás, un agente citotóxico y/o

citostático; cada "L" representa, independientemente de los demás, un conector; "Ab" representa una porción de unión al antígeno anti-huLRRC15, tal como un anticuerpo anti-huLRRC15 o un fragmento de unión; cada "XY" representa un enlace formado entre un grupo funcional R^x en el conector y un grupo funcional "complementario" R^y en la porción de unión al antígeno; y n representa la DAR del ADC anti-huLRRC15. En la presente descripción se describen ADC anti-huLRRC15 de acuerdo con la fórmula estructural (I) en la cual cada "D" es la misma y es una auristatina que penetra en las células (por ejemplo, dolastatina-10 o MMAE) o un agente entrecruzador de ADN de unión al surco menor que penetra las células (por ejemplo, un dímero PBD o PBD); cada "L" es igual y es un conector escindible por una enzima lisosómica; cada "XY" es un enlace formado entre una maleimida y un grupo sulfhidrilo; "Ab" es un anticuerpo que comprende seis CDR correspondientes a las seis CDR del anticuerpo huM25, huAD208.4.1, huAD208.12.1, huAD208.14.1, hu139.10, muAD210.40.9 o muAD209.9.1, o un anticuerpo que compite con dicho anticuerpo por unirse a huLRRC15; y n es 2, 3 o 4. En la presente se describen ADC anti-huLRRC15 de fórmula estructural (I), en donde "Ab" es un anticuerpo humanizado, por ejemplo, un anticuerpo humanizado que comprende cadenas V_H y V_L correspondientes a las cadenas V_H y V_L del anticuerpo huM25, huAD208.4.1, huAD208.12.1, huAD208.14.1 o hu139.10. En la presente se describen los ADC anti-huLRRC 15 de fórmula estructural (I), en donde Ab es un anticuerpo humanizado seleccionado de huM25, huM25-S239C, huAD208.4.1, huAD208.4.1-S239C, huAD208.12.1, huAD208.14.1 y hu139.10.

En otro aspecto, la presente descripción proporciona composiciones que incluyen los ADC anti-huLRRC15. Las composiciones generalmente comprenden uno o más ADC anti-huLRRC15 como se describe en la presente descripción, y/o sales de los mismos, y uno o más excipientes, vehículos o diluyentes. Las composiciones pueden formularse para uso farmacéutico u otros usos. En un aspecto, la composición se formula para uso farmacéutico y comprende un ADC anti-huLRRC15 de acuerdo con la fórmula estructural (I) o cualquiera de las formas de modalidad ilustrativa específica de la misma, y uno o más excipientes, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones formuladas para uso farmacéutico pueden envasarse en forma masiva adecuada para múltiples administraciones, o pueden envasarse en forma de dosis unitarias adecuadas para una única administración. Ya sea envasada a granel o en forma de dosis unitarias, la composición puede presentarse en forma seca, como un liofilizado, o en forma líquida. Las composiciones líquidas de dosificación unitaria pueden envasarse convenientemente en forma de jeringas precargadas con una cantidad de ADC anti-huLRRC15 adecuada para una única administración.

También se describen anticuerpos anti-huLRRC15 no conjugados y/o fragmentos de unión. Dichos anticuerpos pueden usarse en una variedad de contextos *in vitro* e *in vivo*, que incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, tinciones celulares para ensayos biológicos y agentes de diagnóstico para controlar el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-), ya sea que el tratamiento sea con ADC anti-huLRRC15 u otros agentes, o una combinación de agentes. Los anticuerpos anti-huLRRC15 y/o los fragmentos de unión pueden marcarse con porciones para ayudar a la detección en ensayos de diagnóstico u otros, o pueden no estar marcados. Los marcadores adecuados incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, marcadores isotópicos, marcadores fluorescentes, marcadores quimioluminiscentes, sustratos para enzimas u otras moléculas de unión, etcétera. Los anticuerpos anti-huLRRC15 y/o fragmentos de unión ilustrativos incluyen los diversos anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos y/o fragmentos de unión descritos en la presente descripción en relación con los anticuerpos anti-huLRRC15 y/o fragmentos de unión descritos en la presente descripción en relación con los ADC anti-huLRRC15.

También se describen polinucleótidos que codifican porciones de unión al antígeno (por ejemplo, anticuerpos y/o fragmentos de unión) que componen los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción, células hospedero transformadas o transfectadas con los polinucleótidos, y composiciones y métodos útiles para elaborar los diversos ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción.

Como se señaló anteriormente, los ADC anti-huLRRC15, incluyendo los agentes citotóxicos y/o citostáticos que penetran en las células, exhiben una potente actividad antitumoral contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) que se cree que está mediado, al menos en parte, por un efecto dirigido de eliminación de células en la vecindad, y que esta potente actividad antitumoral se observa con los ADC anti-huLRRC15 que se unen específicamente a la porción del ECD de huLRRC15 que puede escindirse de la superficie celular. Esto es sorprendente, ya que el segmento ECD está disponible como un "sumidero" o "señuelo" para los ADC anti-huLRRC15, lo que interfiere con su capacidad para unirse e internalizarse en células que expresan huLRRC15. Los datos proporcionados en la presente descripción demuestran, por primera vez, que los ADC dirigidos a huLRRC15 pueden usarse terapéuticamente para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-).

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente descripción proporciona métodos para usar ADC anti-huLRRC15 terapéuticamente para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-). Los métodos generalmente implican administrar a un paciente humano que tiene un tumor huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) una cantidad de un ADC anti-huLRRC15 suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico. Los tumores LRRC15 estroma(+)/cáncer(-) humanos que pueden tratarse de manera beneficiosa con ADC anti-huLRRC15 incluyen, entre otros, cánceres de seno, cánceres de pulmón (por ejemplo, cánceres de pulmón de células no pequeñas), cánceres de cabeza y cuello, cánceres pancreáticos, cánceres colorrectales, cánceres de vejiga, cánceres de hígado y cánceres de ovario. El cáncer puede haberse diagnosticado recientemente y no haberse tratado, o puede ser recidivante, refractario o recidivante y refractario, o una forma metastásica de un tumor huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-).

Los ADC anti-huLRRC15 pueden administrarse como agentes terapéuticos únicos (monoterapia) o complementarios a, o con otros tratamientos contra el cáncer y/o agentes terapéuticos, típicamente pero no necesariamente aquellos utilizados para tratar el tipo de tumor huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) en tratamiento. De hecho, los datos presentados en la presente descripción demuestran que los tumores que vuelven a crecer después del tratamiento cuando se tratan con agentes disponibles actualmente, o que exhiben resistencia a otras quimioterapias dirigidas o no dirigidas, retienen la sensibilidad a los ADC anti-huLRRC15 (véase, por ejemplo, el Ejemplo 14 y las Figuras 20A-20E). Si bien no desea limitarse a la teoría, un posible mecanismo de acción de los ADC anti-huLRRC15 de la descripción puede ser la destrucción de células cancerosas que exhiben propiedades de tipo mesenquimatoso que les otorgan resistencia a las terapias estándares. Por consiguiente, los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción proporcionan beneficios significativos en relación con los enfoques actuales dirigidos y no dirigidos para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-). Las terapias adyuvantes y/o los agentes terapéuticos se usarán típicamente a su dosis, vía de administración y frecuencia de administración aprobadas, pero pueden usarse a dosis más bajas y/o con menos frecuencia. Cuando se administra como monoterapia, el ADC anti-huLRRC15 generalmente se administrará en un esquema que equilibre la conveniencia del paciente y el beneficio terapéutico. Se contempla que los ADC anti-huLRRC15 administrados una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada siete semanas o una vez cada ocho semanas proporcionarán beneficio terapéutico, aunque la administración más o menos frecuente puede ser beneficiosa. Cuando se administra de forma complementaria a o con otra terapia y/o agente, el ADC anti-huLRRC15 puede administrarse antes, después o simultáneamente con la otra terapia o agente.

Los ADC anti-huLRRC15 pueden administrarse a través de una variedad de vías o modos de administración, que incluyen, pero no se limitan a, infusión intravenosa y/o inyección e inyección subcutánea. La cantidad administrada dependerá de la vía de administración, el programa de dosificación, el tipo de cáncer que se está tratando, la etapa del cáncer que se está tratando y otros parámetros, como la edad y el peso del paciente, como se conoce bien en la técnica. Los esquemas de dosificación ilustrativos específicos que se espera que proporcionen un beneficio terapéutico se proporcionan en la Descripción Detallada. En general, se espera que una cantidad de ADC anti-huLRRC15 en el rango de aproximadamente 0,01 a 10 mg/kg cuando se administra por vía intravenosa de una vez a la semana e incluso una vez cada ocho semanas proporcione un beneficio terapéutico.

6. Breve descripción de los dibujos

Las Figuras 1A-1D proporcionan las secuencias de aminoácidos de las dos isoformas de LRRC15 humano informadas, y las secuencias de ADN correspondientes que codifican cada una. Las Figuras 1A-1B muestran la secuencia de ADN codificante (SEQ ID NO: 2) y la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 1) para la isoforma 1 de huLRRC15 más larga: La Figura 1A corresponde a los residuos de ADN 1-1020 codificantes; la Figura 1B corresponde a los residuos de ADN 1021-1761 codificantes. Las Figuras 1C-1D muestran la secuencia de ADN codificante (SEQ ID NO: 4) y la secuencia de aminoácidos (SEQ ID NO: 3) para la isoforma 2 de huLRRC15 más corta: La Figura 1C corresponde a los residuos de ADN 1-1020 codificantes; la Figura 1D corresponde a los residuos de ADN 1021-1743 codificantes. El péptido señal predicho se indica en **negrita y cursiva**; el sitio de escisión proteolítica predicho está **encuadrado**; y se subrayada el dominio transmembranal previsto.

La Figura 2A proporciona las secuencias de aminoácidos de las cadenas V_H de los anticuerpos huM25, huAD208.4.1, huAD208.12.1, huAD208.14.1, hu139.10, muAD210.40.9 y muAD209.9.1. Se subrayaron las CDR.

La Figura 2B proporciona las secuencias de aminoácidos de las cadenas V_L de los anticuerpos huM25, huAD208.4.1, huAD208.12.1, huAD208.14.1, hu139.10, muAD210.40.9 y muAD209.9.1. Se subrayaron las CDR.

La Figura 3A proporciona la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada del anticuerpo huM25 (SEQ ID NO: 18). Las CDR se subrayaron y la región constante (Fc gamma) se muestra en cursiva. Se muestra la numeración lineal de la secuencia de aminoácidos.

La Figura 3B proporciona la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera del anticuerpo huM25 (SEQ ID NO: 19). Las CDR se subrayaron y la región constante (kappa) se muestra en cursiva. Se muestra la numeración lineal de la secuencia de aminoácidos.

La Figura 4 proporciona un gráfico que ilustra la capacidad de varios anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos que tienen CDR que pueden incluirse en un ADC anti-huLRRC15, para unirse a células que expresan huLRRC15.

La Figura 5 proporciona un gráfico que ilustra la capacidad de varios anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos que tienen CDR que pueden incluirse en un anti-huLRRC15, para unirse al dominio extracelular (ECD) de huLRRC15.

Las Figuras 6A y 6B en conjunto proporcionan resultados de ensayos de competencia de anticuerpos que ilustran que los anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos que tienen CDR que pueden incluirse en un ADC anti-huLRRC15, se unen a diferentes epítomos en huLRRC15. La Figura 6A muestra la competencia de unión de muM25, huM25, hu139.10 o anticuerpos de isotipo contra muM25-AF488; La Figura 6B muestra la competencia de unión de muM25, muAD208.4.1, muAD208.12.1, muAD208.14.1, muAD209.9.1 o anticuerpos de isotipo contra muM25-

AF488.

La Figura 7 proporciona imágenes de tejidos teñidos con inmunohistoquímica (IHC) e inmunofluorescencia (IF) que ilustran que huLRRC15 se expresa altamente en el microambiente del estroma de varios tumores sólidos.

La Figura 8 proporciona imágenes de tejidos teñidos con IHC que ilustran que huLRRC15 no se expresa, o se expresa mínimamente, en varios tipos de tejidos normales.

La Figura 9A representa los niveles de expresión de huLRRC15 medidos por análisis de transferencia Western en un lisado de fibroblastos asociados a cáncer de mama (CAF) derivado de un paciente, o en lisados de células madre mesenquimatosas (MSC) de la médula ósea derivadas de un paciente, disponible comercialmente, en ausencia (-) o presencia (+) de 10 ng/ml de TGFβ. El anticuerpo anti-huLRRC15 utilizado para la detección fue muAD210.40.9.

Las Figuras 9B-9C representan la expresión de huLRRC15 en líneas comerciales de células madre mesenquimatosas (MSC), con y sin 10 ng/ml de TGFβ, medido por citometría de flujo: La Figura 9B representa la expresión de huLRRC15 en comparación con el isotipo en células humanas BM-MSC (Lonza); la Figura 9C representa la expresión de huLRRC15 en comparación con el isotipo en células murinas Balb/c BM-MSC (Cyagen). El anticuerpo anti-huLRRC15 utilizado para la detección fue huM25 marcado con AF647.

La Figura 10 representa los niveles de expresión de huLRRC15, Snail, TCF8/ZEB1, N-Cadherina, E-Cadherina y GAPDH según lo determinado por el análisis de transferencia Western de células cancerosas de pulmón A549 o de cáncer pancreático PANC1 con tratamiento de 5 días con 10 ng/ml de TGFβ, Suplemento de Medios StemXVivo™ de inducción de EMT (R&D Systems, "Estuche EMT"), o control. El anticuerpo anti-LRRC15 utilizado para la detección fue muAD210.40.9; todos los demás anticuerpos se obtuvieron del panel de anticuerpos EMT (Cell Signaling Technology).

La Figura 11A representa la expresión de proteínas determinada por fluorescencia en células cancerosas de pulmón A549 o células cancerosas pancreático PANC1 después de 5 días de tratamiento con 10 ng/ml de TGFβ, Suplemento de Medios StemXVivo™ de inducción de EMT (R&D Systems, "Estuche EMT"), o control. Se muestra la fluorescencia de los anticuerpos utilizando el isotipo marcado con AF647 ("Isotipo-AF647"), el huM25 marcado con AF647 ("huM25-AF647"), el isotipo marcado con PE ("Isotipo-PE") y el anti-EpCAM marcado con PE ("anti-EPCAM-PE").

La Figura 11B representa imágenes de microscopía de células A549 después de un tratamiento continuo con 10 ng/ml de TGFβ durante 9 días (arriba a la izquierda, "tratamiento continuo"), o tratamiento con 10 ng/ml de TGFβ durante 5 días seguido de lavado y cultivo en ausencia de TGFβ por 4 días adicionales (abajo a la izquierda, "tratamiento interrumpido"). La citometría de flujo (gráficos medio y derecho) representa los niveles de huLRRC15 (medio superior e inferior) y EpCAM (superior e inferior derecho) después del tratamiento continuo, el tratamiento interrumpido o el control. El anticuerpo anti-huLRRC15 huM25-AF647 se usó en el análisis.

La Figura 11C representa la expresión de proteínas determinada por fluorescencia en células cancerosas de pulmón A549 (gráficos de la izquierda) o células cancerosas de páncreas PANC1 (gráficos de la derecha) después de 9 días de tratamiento continuo de 10 ng/ml de TGFβ o Suplemento de Medios StemXVivo™ de inducción de EMT (R&D Systems, "Estuche EMT"), o tratamiento con TGFβ o Estuche EMT durante 5 días seguido de lavado y cultivo durante 4 días adicionales. Los paneles superiores representan los niveles de huLRRC15; los paneles inferiores representan los niveles de EpCAM.

La Figura 12 proporciona cromatogramas de preparaciones de ADC. El panel superior ilustra una resolución cromatográfica de una conjugación realizada de acuerdo con el Ejemplo 8. Hay varios picos presentes, correspondientes a anticuerpos unidos a cero ("DAR0"), dos ("DAR2"), cuatro ("DAR4"), seis ("DAR6") y ocho ("DAR8") agentes citostáticos y/o citotóxicos. La preparación tiene un promedio de DAR de 4. Esta preparación de DAR promedio 4 en bruto se sometió a cromatografía de interacción hidrófoba para aislar el pico correspondiente a DAR2. En el panel inferior se muestra el cromatograma de la preparación resultante enriquecida en DAR2 (denominada en la presente descripción preparación "E2"). La preparación de ADC E2 enriquecida es aproximadamente 98 % pura en ADC con una DAR de 2.

Las Figuras 13A-13C proporcionan gráficos que demuestran la potente eficacia *in vivo* de los ADC anti-huLRRC15 ilustrativos contra una variedad de tumores del estroma (+)/cáncer(-). En los gráficos, las flechas indican los días de dosificación. También se muestran imágenes que ilustran la expresión de LRRC15 en células estromales según lo evaluado por IHC en un tumor de xenoinjerto no tratado de 200-800 mm³ en volumen, representativo de cada modelo de xenoinjerto. La Figura 13A demuestra la actividad *in vivo* de huM25-vcMMAE-E2 en xenoinjertos EBC-1; la Figura 13B demuestra la actividad *in vivo* de huM25-vcMMAE-E2 en xenoinjertos de HPAF-II; y la Figura 13C demuestra la actividad *in vivo* de huM25-vcMMAE-DAR4, huAD208.4.1-vcMMAE-DAR4 y huAD208.14.1-vcMMAE-DAR4 en xenoinjertos EBC-1.

La Figura 13D proporciona un gráfico que ilustra que huM25-vcMMAE-DAR4 no es activo *in vivo* contra xenoinjertos generados con HCC-827-ER a pesar de la alta expresión de huLRRC15 en el estroma. Las flechas indican los días de dosificación. También se muestra una imagen representativa de IHC que ilustra la expresión de LRRC15 en células estromales para este modelo de xenoinjerto.

La Figura 14 proporciona un gráfico que demuestra que los tumores que vuelven a crecer después del tratamiento con ADC anti-huLRRC15 ilustrativo huM25-vcMMAE-DAR4 retienen la expresión de huLRRC15 y, por lo tanto, conservan la sensibilidad a los ADC anti-huLRRC15. Las flechas representan los días de dosificación. También se muestran imágenes que ilustran la expresión de LRRC15 en células estromales, según lo evaluado por IHC, en un tumor de xenoinjerto no tratado inmediatamente antes del tratamiento (día 0) o después del tratamiento y el nuevo crecimiento (día 70).

Las Figuras 15A-15I proporcionan gráficos y pictogramas que demuestran que la actividad antitumoral de los anti-huLRRC15 ADC huM25-vcMMAE-E2 ilustrativos contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) es mediado, al menos en parte, por un efecto de eliminación de células en la vecindad. También se muestra una imagen representativa de IHC que ilustra la expresión de LRRC15 en células estromales para este modelo de xenoinjerto. La Figura 15A representa el momento para la extracción de tumores para el análisis *ex vivo*. Las Figuras 15B-15E representan datos de citometría de flujo *ex vivo* de tumores EBC-1 tratados con huM25-vcMMAE-E2 o huM25-mcMMAF-E2: La Figura 15B muestra la expresión de EPCAM; la Figura 15C muestra la expresión de FAP; la Figura 15D muestra la expresión de CD11c; y la Figura 15E muestra la expresión F4/80. La Figura 15F representa el análisis microscópico de tumores *ex vivo* EBC-1 tratados con huM25-vcMMAE-E2. La Figura 15G representa la tinción inmunohistoquímica (IHC) de los tumores EBC-1 que muestran la expresión de LRRC15 en tumores no tratados (a la izquierda de la línea discontinua), o la tinción de fosfohistona-H3 (pHH3) de tumores no tratados o tumores tratados con 6 mg/kg de cualquiera de los isotipos- vcMMAE-E2 o huM25-vcMMAE-E2 (a la derecha de la línea discontinua). La Figura 15H muestra el análisis inmunohistoquímico cuantitativo del porcentaje de células positivas para fosfohistona-H3 (% pHH3) con respecto a los días después del emparejamiento por tamaño en tumores EBC-1 no tratados o tumores tratados con 6 mg/kg de huM25-vcMMAE-E2. La Figura 15I muestra la expresión de CD45 (izquierda) o F4/80 (derecha) mediante tinción de tumores EBC-1 después de 11 días después del tratamiento con 6 mg/kg de isotipo-vcMMAE-E2 (paneles superiores) o huM25-vcMMAE-E2 (paneles inferiores).

La Figura 16 proporciona datos que demuestran que los fibroblastos del estroma son menos proliferativos que las células cancerosas en un panel de diferentes tipos de tumores, utilizando la expresión de Ki67 como marcador de proliferación.

Las Figuras 17A y 17B comparan las actividades antitumorales de huM25-vcMMAE-E2 y huM25-mcMMAF-E2 *in vitro* (Figura 17A) e *in vivo* (Figura 17B). En La Figura 17B, las flechas representan los días de dosificación. También se muestra una imagen representativa de IHC que ilustra la expresión de LRRC15 en células estromales para este modelo de xenoinjerto.

Las Figuras 18A y 18B proporcionan datos que demuestran que, sobre una base de fármaco equivalente, las preparaciones enriquecidas con E2 de ADC anti-huLRRC15 se toleran mejor que las preparaciones de E4 con mayor carga cuando se evalúan para la supervivencia (Figura 15A) o pérdida de peso (Figura 15B). Las flechas representan los días de dosificación.

La Figura 19 proporciona datos que demuestran que los ADC anti-huLRRC15 con carga de fármaco E2 tienen una eficacia comparable a los ADC anti-huLRRC15 que tienen una carga de fármaco más alta, según se evalúa sobre una base de fármaco equivalente. Las flechas representan los días de dosificación. También se muestra una imagen representativa de IHC que ilustra la expresión de LRRC15 en células estromales para este modelo de xenoinjerto.

Las Figuras 20A-20E proporcionan datos que demuestran que los ADC anti-huLRRC15 son superiores a los agentes de tratamiento estándar actuales tales como carboplatino o erlotinib (Figura 20A); erlotinib o cetuximab (Figura 20B); carboplatino o erlotinib (Figura 20C); doxorubicina (Figura 20D); y gemcitabina (Figura 20E) en modelos de eficacia *in vivo*. Las flechas representan los días de dosificación. También se muestran imágenes representativas de IHC que ilustran la expresión de LRRC15 en células estromales para cada uno de estos modelos de xenoinjerto.

Las Figuras 21A-21E proporcionan datos que demuestran que los ADC anti-huLRRC15 son eficaces cuando se administran de forma complementaria a las terapias de tratamiento citotóxicas estándares de atención actuales. La Figura 21A representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con gemcitabina (Gem) en HPAF-II; la Figura 21B representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con gemcitabina (Gem) en EBC-1; la Figura 21C representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-DAR4 con docetaxel; la Figura 21D representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con radiación; y la Figura 21E representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con carboplatino. Las flechas representan los días de dosificación. También se muestran imágenes representativas de IHC que ilustran la expresión de LRRC15 en células estromales para cada uno de

estos modelos de xenoinjerto.

Las Figuras 22A-22C proporcionan datos que demuestran que los ADC anti-huLRRC15 son efectivos cuando se administran de forma complementaria a las terapias dirigidas contra el cáncer. La Figura 22A representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con erlotinib; la Figura 22B representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con cetuximab; y la Figura 22C representa la actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 con un anticuerpo anti-PD-1. Las flechas representan los días de dosificación. También se muestran imágenes representativas de IHC que ilustran la expresión de LRRC15 en células estromales para cada uno de estos modelos de xenoinjerto.

Las Figuras 23A-23D muestran datos *in vitro* para ADC anti-huLRRC15 ilustrativos que comprenden un agente citotóxico y/o citostático de pirrolobenzodiazepina (PBD) de unión al surco menor. La Figura 23A muestra la muerte celular *in vitro* de células 3T12 transfectadas con LRRC15 por el isotipo-S239C-PBD-E2 (línea continua) o huM25-S239C-PBD-E2 (línea discontinua); la Figura 23B muestra la muerte celular *in vitro* de células madre mesenquimales de humano BM-MSC (Lonza) en presencia de 10 ng/ml de TGF β por el isotipo-PBD-DAR2 o huAD208.4.1-PBD-DAR2; la Figura 23C muestra la muerte celular *in vitro* de células madre mesenquimales BM-MSC (Cyagen) murinas Balb/c en presencia de 10 ng/ml de TGF β por el isotipo-PBD-DAR2 o huAD208.4.1-PBD-DAR2; la Figura 23D muestra la muerte celular *in vitro* de células cancerosas de pulmón A549 (arriba) o células A549 que experimentaron transición epitelial a mesenquimatosa (EMT) en presencia de 10 ng/ml de TGF β (abajo) por el isotipo-S239C-PBD-E2, huM25-S239C-PBD-E2, o el anticuerpo huM25-S239C. En los gráficos anteriores, el eje y muestra la viabilidad celular (%), y el eje x muestra la concentración de anticuerpos o ADC en nM.

Las Figuras 24A-24G proporcionan datos que demuestran que los ADC anti-huLRRC15 que comprenden un agente citotóxico y/o citostático de pirrolobenzodiazepina (PBD) de unión al surco menor tienen potencial actividad antitumoral contra tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) en modelos *in vivo*: la Figura 24A representa el efecto de una dosis única del isotipo-S239C-PBD-E2, huM25-S239C-PBD-E2 o anticuerpo de isotipo a 0,6 mg/kg en el volumen tumoral *in vivo* (mm³) a los 0-14 días después del emparejamiento por tamaño de los tumores EBC-1. La Figura 24B representa la microscopía típica de muestras tumorales del experimento de la Figura 24A dosificado con anticuerpo de isotipo (izquierda), isotipo-S239C-PBD-E2 (centro) o huM25-S239C-PBD-E2 (derecha) teñido para α SMA. La Figura 24C representa la cuantificación del % de positividad α -SMA tumoral en muestras del experimento de la Figura 24A.

La Figura 24D representa la expresión de F4/80 (izquierda) o CD11c (derecha) en muestras tumorales del experimento de la Figura 24A, medido por citometría de flujo. La Figura 24E representa el efecto de dosificar 0,6, 0,3 o 0,1 mg/kg de huM25-S239C-PBD-E2, o 0,6 mg/kg de anticuerpo de isotipo, en el volumen tumoral (mm³) *in vivo* a los 0-80 días después del emparejamiento por tamaño de tumores NCI-H1650. La Figura 24F representa el efecto de dosificar 0,3 mg/kg de huM25-S239C-PBD-E2, o 0,3 mg/kg de isotipo-S239C-PBD-E2, en el volumen tumoral *in vivo* (mm³) a los 0-80 días después del emparejamiento por tamaño de tumores NCI-H1650. La Figura 24G muestra los efectos de 0,6 mg/kg de isotipo-PBD-DAR2 o huAD208.4.1-PBD-DAR2, o 12 mg/kg de anticuerpo de isotipo hulG1, en tumores NCI-H1650; la Figura 24H muestra los efectos de 0,6 mg/kg de isotipo-vcMMAE-DAR2 o huAD208.4.1-PBD-DAR2, o 6 mg/kg de anticuerpo de isotipo hulG1, en tumores EBC-1. Las flechas representan los días de dosificación. También se muestran imágenes representativas de IHC que ilustran la expresión de LRRC15 en células estromales para cada uno de estos modelos de xenoinjerto.

7. Descripción detallada

La presente descripción se refiere a conjugados fármaco-anticuerpo que se unen específicamente a LRRC15 humano, composiciones que comprenden los ADC, anticuerpos anti-huLRRC15 y/o fragmentos de unión que pueden comprender los ADC, polinucleótidos que codifican anticuerpos anti-huLRRC15 y/o fragmentos de unión que comprenden los ADC, células hospedero capaces de producir los anticuerpos y/o fragmentos de unión, métodos y composiciones útiles para producir los anticuerpos, fragmentos de unión y ADC, y varios métodos para uso de los ADC.

Como apreciarán los expertos en la técnica, los anticuerpos y/o los fragmentos de unión son de naturaleza "modular". A lo largo de la descripción, se describen diversas modalidades específicas de los diversos "módulos" de los anticuerpos y/o fragmentos de unión. Como ejemplos específicos no limitantes, se describen diversas modalidades específicas de CDR V_H, cadenas V_H, CDR V_L y cadenas V_L. Se pretende que todas las modalidades específicas puedan combinarse entre sí como si cada combinación específica se describiera explícitamente de manera individual.

Los ADC descritos en la presente descripción también son de naturaleza "modular". A lo largo de la descripción, se describen diversas modalidades específicas de los diversos "módulos" de los ADC. Como ejemplos específicos no limitantes, se describen modalidades específicas de anticuerpos, conectores y agentes citotóxicos y/o citostáticos que pueden componer los ADC. Se pretende que todas las modalidades específicas descritas puedan combinarse entre sí como si cada combinación específica se describiera explícitamente de manera individual.

Los expertos en la técnica también apreciarán que los diversos ADC descritos en la presente descripción pueden estar en forma de sales y, en algunas modalidades específicas, en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Los ADC de la descripción que poseen grupos suficientemente ácidos, suficientemente básicos o ambos grupos funcionales, pueden reaccionar con cualquiera de una serie de bases inorgánicas y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal. Alternativamente, los compuestos que son inherentemente cargados, como los que tienen un nitrógeno cuaternario, pueden formar una sal con un contraión apropiado, por ejemplo, un haluro, como un bromuro, cloruro o fluoruro.

Los ácidos comúnmente empleados para formar sales de adición de ácido son ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos como ácido *p*-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido *p*-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, etcétera. Las sales de adición de bases incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas, tales como hidróxidos de amonio y metales alcalinos o alcalinotérreos, carbonatos, bicarbonatos y similares.

7.1. Abreviaturas

Los anticuerpos, fragmentos de unión, ADC y polinucleótidos descritos en la presente descripción se describen por medio de sus respectivas secuencias de polipéptido o polinucleótido. A menos que se indique de cualquier otra manera, las secuencias de polipéptidos se proporcionan en orientación N→C; las secuencias de polinucleótidos en orientación 5'→3'. Para secuencias de polipéptidos, pueden usarse las abreviaturas convencionales de tres o una letra para los aminoácidos codificados genéticamente, como se indica en la TABLA 1, a continuación.

TABLA 1 Abreviaturas de aminoácidos codificados		
Aminoácidos	Abreviatura de tres letras	Abreviatura de una letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Ácido aspártico	Áspid	D
Cisteína	Cys	C
Ácido glutámico	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
Glicina	Gly	G
Histidina	Su	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K
Metionina	Reunió	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	w
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V

Ciertas secuencias se definen mediante fórmulas estructurales que especifican residuos de aminoácidos que pertenecen a ciertas clases (por ejemplo, alifáticos, hidrófobos, etcétera). Las diversas clases a las que pertenecen los aminoácidos codificados genéticamente como se usan en la presente descripción se indican en la TABLA 2, a continuación. Algunos aminoácidos pueden pertenecer a más de una clase. La cisteína, que contiene un grupo sulfhidrilo, y la prolina, que está restringida conformacionalmente, no son clases asignadas.

TABLA 2 Clases de aminoácidos codificados	
Clase	Aminoácidos
Alifático	A, I, L, V
Aromático	F, Y, W
No polar	M, A, I, L, V
Polar	N, Q, S, T
Básico	RKH - GNT Y
Ácido	D, E
Pequeña	A, G

7.2. Definiciones

A menos que se defina de cualquier otra manera en la presente descripción, los términos científicos y técnicos usados en relación con la presente invención tendrán los significados que comúnmente entienden los expertos en la técnica.

7.3. Conjugados fármaco-anticuerpo anti-huLRRC15

En un aspecto, la descripción se refiere a conjugados fármaco-anticuerpo ("ADC") que se unen específicamente a la isoforma 1 de LRRC15 humano (SEQ ID NO: 1) o la isoforma 2 (SEQ ID NO: 3). Los ADC anti-huLRRC15 generalmente comprenden una porción anti-huLRRC15 de unión al antígeno, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión anti-huLRRC15, que tiene uno o más agentes citotóxicos y/o citostáticos unidos a la misma por medio de uno o más conectores.

7.3.1. Anticuerpos anti-huLRRC15 y fragmentos de unión

La porción de unión al antígeno de la invención es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo de unión al antígeno. Los anticuerpos y/o fragmentos de unión de los ADC anti-huLRRC15 se unen específicamente a huLRRC15 en una región del dominio extracelular (residuos 22 a 527 de la SEQ ID NO: 3) que se libera de la superficie celular y se introduce en el torrente sanguíneo ("segmento ECD"o"sECD") después de la escisión en un sitio de degradación proteolítica entre Arg⁵²⁷ y Ser⁵²⁸ de la SEQ ID NO: 3.

Como se usa en la presente descripción, el término "anticuerpo" (Ab) se refiere a una molécula de inmunoglobulina que se une específicamente a, o es inmunológicamente reactivo, con un antígeno particular, aquí, el sECD de huLRRC15. Los anticuerpos comprenden regiones determinantes de complementariedad (CDR), también conocidas como regiones hipervariables, en los dominios variables de la cadena ligera y de la cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan regiones de marco (FR). Como se sabe en la técnica, la posición/límite de aminoácidos que define una región hipervariable de un anticuerpo puede variar, en dependencia del contexto y diversas definiciones conocidas en la técnica. Algunas posiciones dentro de un dominio variable pueden verse como posiciones híbridas hipervariables en el sentido de que estas posiciones pueden considerarse dentro de una región hipervariable bajo un conjunto de criterios, mientras que se consideran fuera de una región hipervariable bajo un conjunto diferente de criterios. Una o más de estas posiciones también pueden encontrarse en regiones hipervariables extendidas. Los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras nativas comprenden cada uno cuatro regiones FR, en gran parte mediante la adopción de una configuración de lámina β , conectada por tres CDR, que forman bucles que se conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de lámina β . Las CDR en cada cadena se mantienen juntas en estrecha proximidad por las regiones FR y, con las CDR de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Véase, Kabat y otros, *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (Instituto Nacional de Salud, Bethesda, Md. 1987). Como se usa en la presente descripción, la numeración de los residuos de aminoácidos de inmunoglobulina se realiza de acuerdo con el sistema de numeración de residuos de aminoácidos de inmunoglobulina de Kabat y otros a menos que se indique lo contrario.

Los anticuerpos de los ADC anti-huLRRC15 pueden ser policlonales, monoclonales, genéticamente modificados y/o modificados de otra manera, incluyendo, entre otros, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, anticuerpos primatizados, anticuerpos de cadena única, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos dobles de dominio variable, etcétera. En diversas modalidades, los anticuerpos comprenden toda o una porción de una región constante de un anticuerpo. En algunas modalidades, la región constante es un isotipo seleccionado de: IgA (por ejemplo, IgA₁ o IgA₂), IgD, IgE, IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄), IgM y IgY. En modalidades específicas, los anticuerpos de un ADC anti-huLRRC15 comprenden una región constante de isotipo IgG₁.

El término "anticuerpo monoclonal" como se usa en la presente descripción no se limita a anticuerpos producidos mediante la tecnología de hibridoma. Un anticuerpo monoclonal se deriva de un solo clon, que incluye cualquier clon eucariota, procariota o fago, por cualquier medio disponible o conocido en la técnica. Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse mediante el uso de una amplia variedad de técnicas conocidas en la técnica, que incluyen el uso de tecnologías de hibridoma, recombinantes y de presentación en fagos, o una combinación de las mismas. En muchos usos de la presente descripción, incluyendo el uso *in vivo* de ADC que incluyen anticuerpos anti-huLRRC15 en humanos, pueden usarse adecuadamente anticuerpos quiméricos, primatizados, humanizados o humanos.

El término anticuerpo "quimérico" como se usa en la presente descripción se refiere a un anticuerpo que tiene secuencias variables derivadas de una inmunoglobulina no humana, tal como un anticuerpo de rata o de ratón, y regiones constantes de inmunoglobulina humana, típicamente escogidas de un patrón de inmunoglobulina humana. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Morrison, 1985, Science 229(4719): 1202-7; Oi y otros, 1986, BioTechniques 4: 214-221; Gillies y otros, 1985, J. Immunol. Methods 125: 191-202; Patentes de Estados Unidos núm. 5,807,715; 4,816,567; y 4,816,397.

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son inmunoglobulinas quiméricas que contienen secuencias mínimas derivadas de la inmunoglobulina no humana. En general, un anticuerpo humanizado comprende sustancialmente todo del al menos uno, y típicamente dos dominios variables en los cuales todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado puede también comprender al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. Los métodos de humanización de anticuerpos se conocen en la técnica. Véanse, por ejemplo, Riechmann y otros, 1988, Nature 332: 323-7; Patentes de Estados Unidos núm. 5,530,101; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; y 6,180,370 de Queen y otros; EP239400; Publicación PCT WO 91/09967; Patente de Estados Unidos núm. 5,225,539; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28: 489-498; Studnicka y otros, 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska y otros, 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 91: 969-973; y Patente de los Estados Unidos núm. 5,565,332.

Los "anticuerpos humanos" son anticuerpos que tienen la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana e incluyen anticuerpos aislados de bancos de inmunoglobulina humana o de animales transgénicos para una o más inmunoglobulinas humanas y que no expresan inmunoglobulinas endógenas. Los anticuerpos humanos pueden producirse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica, incluyendo los métodos de presentación en fagos que usan bancos de anticuerpos derivados de secuencias de inmunoglobulina humana. Véanse las patentes de Estados Unidos núm. 4,444,887 y 4,716,111; y las publicaciones PCT WO 98/46645; WO 98/50433; WO 98/24893; WO 98/16654; WO 96/34096; WO 96/33735; y WO 91/10741. Los anticuerpos humanos también pueden producirse mediante el uso de ratones transgénicos incapaces de expresar inmunoglobulinas endógenas funcionales pero que pueden expresar genes de inmunoglobulinas humanas. Véanse, por ejemplo, las publicaciones PCT WO 98/24893; WO92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; las Patentes de Estados Unidos núm. 5,413,923; 5,625,126; 5,633,425; 5,569,825; 5,661,016; 5,545,806; 5,814,318; 5,885,793; 5,916,771; y 5,939,598. Además, empresas como Medarex (Princeton, NJ), Astellas Pharma (Deerfield, IL), Amgen (Thousand Oaks, CA) y Regeneron (Tarrytown, NY) pueden participar para proporcionar anticuerpos humanos dirigidos contra un antígeno seleccionado utilizando tecnología similar a lo descrito anteriormente. Los anticuerpos completamente humanos que reconocen un epítipo seleccionado pueden generarse utilizando una técnica denominada "selección guiada". En este enfoque, un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de ratón, se usa para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconoce el mismo epítipo (véase, Jaspers y otros, 1988, Biotechnology 12: 899-903).

Los "anticuerpos primatizados" comprenden regiones variables de mono y regiones constantes de humano. Los métodos para producir anticuerpos quiméricos se conocen en la técnica. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núm. 5,658,570; 5,681,722; y 5,693,780.

Los ADC anti-huLRRC15 pueden comprender moléculas de anticuerpos de longitud completa (intactos), así como fragmentos de unión al antígeno que son capaces de unirse específicamente a huLRRC15. Los ejemplos de fragmentos de unión de los anticuerpos incluyen, a manera de ejemplo y sin limitación, Fab, Fab', F(ab')₂, fragmentos FV y fragmentos FV de cadena sencilla.

Un fragmento Fab contiene el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (CH₂) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab' difieren de los fragmentos Fab por la adición de algunos residuos en el extremo carboxilo del dominio CH₂ de la cadena pesada que incluye una o más cisteínas de la región bisagra del anticuerpo. Los fragmentos F(ab') se producen por ruptura del enlace disulfuro en las cisteínas de la bisagra del producto de digestión con pepsina F(ab')₂. Los expertos en la técnica conocen acoplamientos químicos adicionales de los fragmentos de anticuerpos. Los fragmentos Fab y F(ab')₂ carecen del fragmento Fc del anticuerpo intacto, se eliminan más rápidamente de la circulación de animales y pueden tener una unión a tejido menos específica que un anticuerpo intacto (véase, por ejemplo, Wahl y otros, 1983, J. Nucl. Medicina. 24:316).

Un fragmento "Fv" es el fragmento mínimo de un anticuerpo que contiene un sitio completo de unión y reconocimiento del blanco. Esta región consiste en un dímero de un dominio variable de la cadena ligera y uno de la cadena pesada

en una asociación estrecha y no covalente (dímero V_H-V_L). Es en esta configuración las tres CDR de cada dominio variable interactúan para definir un sitio de unión al antígeno en la superficie del dímero V_H-V_L . A menudo, las seis CDR confieren especificidad de unión al antígeno sobre el anticuerpo. Sin embargo, en algunos casos, incluso un único dominio variable (o la mitad de un FV que comprende solo tres CDR específicas para un blanco) puede tener la capacidad de reconocer y unirse al antígeno, aunque con una afinidad menor que el sitio de unión completo.

Los fragmentos de unión al anticuerpo "FV de cadena sencilla" o "scFv" comprenden los dominios V_H y V_L de un anticuerpo, donde estos dominios están presentes en una cadena polipeptídica única. Generalmente, el polipéptido FV comprende además un conector polipeptídico entre los dominios V_H y V_L que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión al antígeno.

Los "anticuerpos de dominio único" están compuestos de un único dominio V_H o V_L que exhibe suficiente afinidad por huLRRC15. Un anticuerpo de dominio único de la descripción puede ser un anticuerpo camelizado (véase, por ejemplo, Riechmann, 1999, *Journal of Immunological Methods* 231:25-38).

Los anticuerpos de los ADC anti-huLRRC15 también pueden ser anticuerpos biespecíficos. Los anticuerpos biespecíficos son anticuerpos monoclonales, a menudo humanos o humanizados, que tienen especificidades de unión para dos epítomos diferentes en el mismo o diferentes antígenos. En la presente descripción, una de las especificidades de unión puede dirigirse hacia huLRRC15, la otra puede ser para cualquier otro antígeno, por ejemplo, para una proteína de la superficie celular, un receptor, una subunidad del receptor, un antígeno específico de tejido, una proteína derivada de un virus, una proteína de envoltura codificada en un virus, una proteína derivada de bacterias o una proteína de superficie bacteriana, etcétera.

Los anticuerpos de los ADC anti-huLRRC15 pueden derivatizarse. Los anticuerpos derivatizados se modifican típicamente por glucosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización con grupos protectores/bloqueadores conocidos, escisión proteolítica, unión a un ligando celular u a otra proteína. Cualquiera de las numerosas modificaciones químicas puede llevarse a cabo mediante técnicas conocidas, que incluyen, pero no se limitan a, escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica de tunicamicina, etcétera. Además, el derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales, por ejemplo, utilizando la tecnología ambrx. Véase, por ejemplo, Wolfson, 2006, *Chem. Biol.* 13(10):1011-2.

Los anticuerpos o fragmentos de unión de ADC anti-huLRRC15 pueden ser anticuerpos o fragmentos cuyas secuencias se modificaron para alterar al menos una función efectora biológica mediada por una región constante. Por ejemplo, en algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 puede modificarse para reducir al menos una función efectora biológica mediada por una región constante en relación con el anticuerpo no modificado, por ejemplo, la unión reducida al receptor Fc (FcγR). La unión de FcγR puede reducirse mutando el segmento de la región constante de la inmunoglobulina del anticuerpo en regiones particulares necesarias para las interacciones con FcγR (véase, por ejemplo, Canfield y Morrison, 1991, *J. Exp. Med.* 173:1483-1491; y Lund y otros, 1991, *J. Immunol.* 147:2657-2662). Reducir la unión a FcγR también puede reducir otras funciones efectoras que dependen de las interacciones con FcγR, como la opsonización, la fagocitosis y la citotoxicidad celular dependiente de antígeno ("ADCC").

Los anticuerpos o fragmentos de unión de los ADC anti-huLRRC15 pueden incluir modificaciones que aumenten o disminuyan sus afinidades de unión al receptor de Fc neonatal, FcRn, por ejemplo, al mutar el segmento de la región constante de la inmunoglobulina en regiones particulares involucradas en interacciones con FcRn (véase, por ejemplo, el documento WO 2005/123780). En modalidades particulares, un anticuerpo anti-huLRRC15 de la clase IgG está mutado de manera que al menos uno de los residuos de aminoácidos 250, 314 y 428 de la región constante de la cadena pesada es sustituido por separado, o en cualquier combinación de los mismos, tal como en las posiciones 250 y 428, o en las posiciones 250 y 314, o en las posiciones 314 y 428, o en las posiciones 250, 314 y 428, siendo la sustitución en las posiciones 250 y 428 una combinación específica. Para la posición 250, el residuo de aminoácido sustituyente puede ser cualquier residuo de aminoácido distinto de treonina, que incluye, pero no se limita a, alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, valina, triptófano o tirosina. Para la posición 314, el residuo de aminoácido sustituyente puede ser cualquier residuo de aminoácido distinto de la leucina, que incluye, pero no se limita a, alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina. Para la posición 428, los residuos de aminoácidos sustituyentes pueden ser cualquier resto de aminoácidos que no sea metionina, incluyendo, pero sin limitación, alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina. Las combinaciones específicas de las sustituciones de aminoácidos adecuadas se identifican en la Tabla 1 de la Patente de Estados Unidos núm. 7,217,797. En otras modalidades adicionales, los dominios variantes de Fc tienen al menos una o más modificaciones que mejoran la afinidad por el FcRn, por ejemplo, una modificación de uno o más residuos de aminoácidos 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436 (por ejemplo, M428L), o una modificación en las posiciones 250 y 428 (por ejemplo, T250Q/M428L). Véase, por ejemplo, Hinton y otros, 2004, *J. Biol. Chem.* 279 (8): 6213-6216; Publicaciones PCT núm. WO 97/34631 y WO 02/060919. Dichas mutaciones aumentan la unión a FcRn, que protege al anticuerpo de la degradación y aumenta su vida media.

Un anticuerpo anti-huLRRC15 y/o fragmento de unión puede tener uno o más aminoácidos insertados en una o más de sus regiones hipervariables, por ejemplo, como se describe en Jung y Plückthun, 1997, Protein Engineering 10:9, 959-966; Yazaki y otros, 2004, Protein Eng. Des Sel. 17(5):481-9; y la solicitud de patente de Estados Unidos núm. 2007/0280931.

5 Pueden ocurrir modificaciones postraduccionales a las secuencias de un anticuerpo incluido en un ADC anti-huLRRC15, como la escisión de uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3 o más) residuos de aminoácidos en el extremo C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo.

10 Las modificaciones postraduccionales de un anticuerpo incluido en un ADC anti-huLRRC15 pueden incluir glicosilación. Los complejos biantenarios comunes pueden comprender una estructura central que tiene dos N-acetilglucosamina (GlcNAc), tres manosa y dos residuos de GlcNAc que están unidos por un enlace β -1,2 a α -6 manosa y a α -3 manosa para formar dos antenas. Pueden unirse a la estructura central uno o más residuos de fucosa (Fuc), galactosa (Gal), glucanos con alto contenido en manosa Man-5 o Man-9, GlcNAc bisectante y ácido siálico, 15 incluyendo el ácido N-acetilneuramínico (NANA) o el ácido N-glicolilneuramínico (NGNA). Las glicofomas unidas por N pueden incluir G0 (proteína que tiene una estructura de glicosilación biantenaria central), G0F (G0 fucosilada), G0F GlcNAc, G1 (proteína que tiene una estructura de glicosilación central con un residuo de galactosa), G1F (G1 fucosilado), G2 (proteína que tiene una estructura de glicosilación central con dos residuos de galactosa) y/o G2F (G2 fucosilada).

20 Los anticuerpos incluidos en los ADC anti-huLRRC15 pueden tener niveles bajos de fucosa o no tener. Los anticuerpos que carecen de fucosa se correlacionan con una mayor actividad de ADCC, especialmente a bajas dosis de anticuerpo. Véase Shields y otros, 2002, J. Biol. Chem 277:26733-26740; Shinkawa y otros, 2003, J. Biol. Chem 278:3466-73. Los métodos para preparar anticuerpos sin fucosa incluyen el crecimiento en células YB2/0 de mieloma de rata (ATCC CRL 1662). Las células YB2/0 expresan niveles bajos de ARNm de FUT8, que codifica la α -1,6-fucosiltransferasa, una 25 enzima necesaria para la fucosilación de polipéptidos.

Los anticuerpos anti-huLRRC15 y/o fragmentos de unión con alta afinidad por huLRRC15 pueden ser convenientes para usos terapéuticos. En consecuencia, la presente descripción contempla ADC que comprenden anticuerpos anti-huLRRC15 y/o fragmentos de unión que tienen una alta afinidad de unión a huLRRC15. En modalidades específicas, 30 los anticuerpos y/o fragmentos de unión se unen a huLRRC15 con una afinidad de al menos aproximadamente 100 nM, pero pueden exhibir una mayor afinidad, por ejemplo, al menos aproximadamente 90 nM, 80 nM, 70 nM, 60 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 25 nM, 20 nM, 15 nM, 10 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,1 nM, 0,01 nM, o incluso mayor. En algunas modalidades, los anticuerpos se unen a huLRRC15 con una afinidad en el intervalo de aproximadamente 1 pM a aproximadamente 100 nM, o una afinidad que varía entre cualquiera de los valores 35 anteriores, tales como, pero sin limitación, de aproximadamente 0,01 a 100, de 0,01 a 10, 0,01 a 2, 0,1 a 100, 0,1 a 10, o 0,1 a 2 nM.

40 La afinidad de anticuerpos y/o fragmentos de unión para huLRRC15 puede determinarse utilizando técnicas bien conocidas en la técnica o descritas en la presente descripción, como, por ejemplo, pero no a modo de limitación, ELISA, calorimetría de titulación isotérmica (ITC), resonancia de plasmón superficial, flujo citometría o ensayos de polarización fluorescente.

45 Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1, V_H CDR #2 y V_H CDR#3 tienen secuencias seleccionadas de sus respectivas secuencias de V_H CDR en la tabla a continuación:

50

55

60

65

ES 2 810 755 T3

	CDR	Secuencia (N→C)	Identificador
	huM25 V _H CDR #1	SYWIE	SEQ ID NO: 10
5	huAD208.4.1 V _H CDR #1	DYYIH	SEQ ID NO: 20
	huAD208.12.1 V _H CDR #1	NYWMH	SEQ ID NO: 30
	huAD208.14.1 V _H CDR #1	DYYIH	SEQ ID NO: 40
10	hu139.10 V _H CDR #1	SYGVH	SEQ ID NO: 50
	muAD210.40.9 V _H CDR #1	NYWLG	SEQ ID NO: 60
	muAD209.9.1 V _H CDR #1	NFGMN	SEQ ID NO: 70
15	huM25 V _H CDR #2	EILPGSDTTNYNEKFKD	SEQ ID NO: 11
	huAD208.4.1 V _H CDR #2	LVYPYIGGTNYNQKFKG	SEQ ID NO: 21
	huAD208.12.1 V _H CDR #2	MIHPNSGSTKHNEKFRG	SEQ ID NO: 31
20	huAD208.14.1 V _H CDR #2	LVYPYIGGSSYNQQFKG	SEQ ID NO: 41
	hu139.10 V _H CDR #2	VIWAGGSTNYNSALMS	SEQ ID NO: 51
	muAD210.40.9 V _H CDR #2	DIYPGGGNTYYNEKLG	SEQ ID NO: 61
25	muAD209.9.1 V _H CDR #2	WINLYTGEPTFADDFKG	SEQ ID NO: 71
	huM25 V _H CDR #3	DRGNYRAWFGY	SEQ ID NO: 12
	huAD208.4.1 V _H CDR #3	GDNKYDAMDY	SEQ ID NO: 22
30	huAD208.12.1 V _H CDR #3	SDFGNRYWYFDV	SEQ ID NO: 32
	huAD208.14.1 V _H CDR #3	GDNNYDAMDY	SEQ ID NO: 42
	hu139.10 V _H CDR #3	HMITEDYYGMDY	SEQ ID NO: 52
35	muAD210.40.9 V _H CDR #3	WGDKKGNFYAY	SEQ ID NO: 62
	muAD209.9.1 V _H CDR #3	KGETYYRYDGFAY	SEQ ID NO: 72

40 Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1, V_L CDR #2 y V_L CDR #3 tienen secuencias seleccionadas de sus respectivas secuencias de V_L CDR en la tabla a continuación:

	CDR	Secuencia (N→C)	Identificador
45	huM25 V _L CDR #1	RASQDISNYLN	SEQ ID NO: 13
	huAD208.4.1 V _L CDR #1	RASQSVSTSSYSYMH	SEQ ID NO: 23
	huAD208.12.1 V _L CDR #1	RASQSSSNLH	SEQ ID NO: 33
50	huAD208.14.1 V _L CDR #1	RASQSVSTSTYNYMH	SEQ ID NO: 43
	hu139.10 V _L CDR #1	KSSQSLLNSRTRKNYLA	SEQ ID NO: 53
	muAD210.40.9 V _L CDR #1	TASSSVYSSYLH	SEQ ID NO: 63
55	muAD209.9.1 V _L CDR #1	RSSKSLHNSGNTYLY	SEQ ID NO: 73
	huM25 V _L CDR #2	YTSRLHS	SEQ ID NO: 14
	huAD208.4.1 V _L CDR #2	YASSLES	SEQ ID NO: 24
60	huAD208.12.1 V _L CDR #2	YVSQSIG	SEQ ID NO: 34
	huAD208.14.1 V _L CDR #2	YASNLES	SEQ ID NO: 44

65

Continuación

	CDR	Secuencia (N→C)	Identificador
5	hu139.10 V _L CDR #2	WASTRES	SEQ ID NO: 54
	muAD210.40.9 V _L CDR #2	STSNLAS	SEQ ID NO: 64
	muAD209.9.1 V _L CDR #2	RMSNLAS	SEQ ID NO: 74
10	huM25 V _L CDR #3	QQGEALPWT	SEQ ID NO: 15
	huAD208.4.1 V _L CDR #3	EQSWEIRT	SEQ ID NO: 25
	huAD208.12.1 V _L CDR #3	QQSNSWPFT	SEQ ID NO: 35
15	huAD208.14.1 V _L CDR #3	HHTWEIRT	SEQ ID NO: 45
	hu139.10 V _L CDR #3	KQSYNLPT	SEQ ID NO: 55
	muAD210.40.9 V _L CDR #3	HQYHRSPT	SEQ ID NO: 65
20	muAD209.9.1 V _L CDR #3	MLLEYPYT	SEQ ID NO: 75

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1, V_H CDR #2 y V_H CDR #3 tienen secuencias seleccionadas de sus respectivas secuencias de V_H CDR en la tabla a continuación, y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1, V_L CDR #2 y V_L CDR #3 tienen secuencias seleccionadas de sus respectivas secuencias de V_L CDR en la tabla a continuación:

	CDR	Secuencia (N→C)	Identificador
30	huM25 V _H CDR #1	SYWIE	SEQ ID NO: 10
	huAD208.4.1 V _H CDR #1	DYYIH	SEQ ID NO: 20
	huAD208.12.1 V _H CDR #1	NYWMH	SEQ ID NO: 30
35	huAD208.14.1 V _H CDR #1	DYYIH	SEQ ID NO: 40
	hu139.10 V _H CDR #1	SYGVH	SEQ ID NO: 50
	muAD210.40.9 V _H CDR #1	NYWLG	SEQ ID NO: 60
40	muAD209.9.1 V _H CDR #1	NFGMN	SEQ ID NO: 70
	huM25 V _H CDR #2	EILPGSDTTNYNEKFKD	SEQ ID NO: 11
	huAD208.4.1 V _H CDR #2	LVYPYIGGTNYNQKFKG	SEQ ID NO: 21
45	huAD208.12.1 V _H CDR #2	MIHPNSGSTKHNEKFRG	SEQ ID NO: 31
	huAD208.14.1 V _H CDR #2	LVYPYIGGSSYNQQFKG	SEQ ID NO: 41
	hu139.10 V _H CDR #2	VIWAGGSTNYNSALMS	SEQ ID NO: 51
50	muAD210.40.9 V _H CDR #2	DIYPGGGNTYYNEKFKG	SEQ ID NO: 61
	muAD209.9.1 V _H CDR #2	WINLYTGEPTFADDFKG	SEQ ID NO: 71
	huM25 V _H CDR #3	DRGNYRAWFGY	SEQ ID NO: 12
55	huAD208.4.1 V _H CDR #3	GDNKYDAMDY	SEQ ID NO: 22
	huAD208.12.1 V _H CDR #3	SDFGNYRWYFDV	SEQ ID NO: 32
	huAD208.14.1 V _H CDR #3	GDNNYDAMDY	SEQ ID NO: 42
60	hu139.10 V _H CDR #3	HMITEDYYGMDY	SEQ ID NO: 52
	muAD210.40.9 V _H CDR #3	WGDKKGNFYFAY	SEQ ID NO: 62
65	muAD209.9.1 V _H CDR #3	KGETYYRYDGFAY	SEQ ID NO: 72

Continuación

	CDR	Secuencia (N→C)	Identificador
5	huM25 V _L CDR #1	RASQDISNYLN	SEQ ID NO: 13
	huAD208.4.1 V _L CDR #1	RASQSVSTSSYSYMH	SEQ ID NO: 23
	huAD208.12.1 V _L CDR #1	RASQSSSNLH	SEQ ID NO: 33
10	huAD208.14.1 V _L CDR #1	RASQSVSTSTYNYMH	SEQ ID NO: 43
	hu139.10 V _L CDR #1	KSSQSLNLSRTRKNYLA	SEQ ID NO: 53
	muAD210.40.9 V _L CDR #1	TASSSVYSSYLH	SEQ ID NO: 63
15	muAD209.9.1 V _L CDR #1	RSSKSLHNSGNTYLY	SEQ ID NO: 73
	huM25 V _L CDR #2	YTSRLHS	SEQ ID NO: 14
	huAD208.4.1 V _L CDR #2	YASSLES	SEQ ID NO: 24
20	huAD208.12.1 V _L CDR #2	YVSQSIG	SEQ ID NO: 34
	huAD208.14.1 V _L CDR #2	YASNLES	SEQ ID NO: 44
	hu139.10 V _L CDR #2	WASTRES	SEQ ID NO: 54
25	muAD210.40.9 V _L CDR #2	STSNLAS	SEQ ID NO: 64
	muAD209.9.1 V _L CDR #2	RMSNLAS	SEQ ID NO: 74
	huM25 V _L CDR #3	QQGEALPWT	SEQ ID NO: 15
30	huAD208.4.1 V _L CDR #3	EQSWEIRT	SEQ ID NO: 25
	huAD208.12.1 V _L CDR #3	QQSNSWPFT	SEQ ID NO: 35
	huAD208.14.1 V _L CDR #3	HHTWEIRT	SEQ ID NO: 45
35	hu139.10 V _L CDR #3	KQSYNLPT	SEQ ID NO: 55
	muAD210.40.9 V _L CDR #3	HQYHRSPPT	SEQ ID NO: 65
	muAD209.9.1 V _L CDR #3	MLLEYPYT	SEQ ID NO: 75

40 Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_H que tiene tres CDR en las que:

45 V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 10, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 11 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 12; o

V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 20, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 21 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 22; o

50 V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 30, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 31 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 32; o

V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 40, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 41 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 42; o

55 V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 50, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 51 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 52; o

V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 60, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 61 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 62; o

60 V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 70, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 71 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 72.

65 Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_L que tiene tres CDR en las que:

ES 2 810 755 T3

V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 13, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 14 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 15; o

5 V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 23, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 24 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 25; o

V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 33, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 34 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 35; o

10 V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 43, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 44 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 45; o

15 V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 53, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 54 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 55; o

V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 63, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 64 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 65; o

20 V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 73, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 74 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 75.

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende:

25 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 10, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 11 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 12 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 13, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 14 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 15; o

30 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 20, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 21 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 22 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 23, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 24 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 25; o

35 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 30, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 31 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 32 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 33, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 34 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 35; o

40 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 40, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 41 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 42 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 43, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 44 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 45; o

45 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 50, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 51 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 52 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 53, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 54 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 55; o

50 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 60, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 61 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 62 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 63, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 64 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 65; o

55 una cadena V_H que tiene tres CDR en las que V_H CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 70, V_H CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 71 y V_H CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 72 y una cadena V_L que tiene tres CDR en las que V_L CDR #1 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 73, V_L CDR #2 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 74 y V_L CDR #3 corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 75.

60 Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a una secuencia seleccionada de una de las secuencias en la tabla a continuación:

65

Cadena	Secuencia (N→C)	Identificador
5 huM25 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYKFSYWIEWVKQAP GGGLEWIGEILPGSDTTNYNEKFKDRATFTSDTSINTAYMELS RLRSDDTAVYYCARDRGNYRAWFGYWGQGLVTVSS	SEQ ID NO: 16
10 huAD208.4.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFTDYYIHVWKQAP GGGLEWIGLVYPYIGGTNYNQKFKGKATLTVDTSTTTAYME MSSLRSEDVAVYYCARGDNKYDAMDYWGQGTTVTVSS	SEQ ID NO: 26
15 huAD208.12.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYFTSYTMH WVRQAPGGGLEWIMGYINPSSDYPNYNQKFKDRVTITADKSTS TAYMELSSLRSEDVAVYYCARWGYSFYD WGQGTTVTVSS	SEQ ID NO: 36
20 huAD208.14.1 V _H	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGFTFTDYYIHVWKQAP GGGLEWIGLVYPYIGGSSYNQKFKGKATLTVDTSTSTAYMEL SSLRSEDVAVYYCARGDNNYDAMDYWGQGTTVTVSS	SEQ ID NO: 46
25 hu139.10 V _H	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFSLTSYGVHWVRQAT GKGLEWLGVIWAGGSTNYNSALMSRLTISKENAKSSVYLQM NSLRAGDTAMYYCATHMIDYGYMDYWGQGTTVTVSS	SEQ ID NO: 56
30 muAD210.40.9 V _H	QVQLQQSGAELVRPGTSVKISCKASGYDFTNYWLGWVKQRP GHGLEWIGDIYPGGGNTYNEKLGKATLADKSSSTAYIHL [SLTSEDSSVYFCARWGDKKNYFAYWGQGLVTVSA	SEQ ID NO: 66
35 muAD209.9.1 V _H	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGFAITNFGMNWVKQAPG KGLKWMGWINLYTGEPTFADDFKGRFAFSLETSASTAYLQIN NLKNEDTVIYFCARKGETYYRYDGFAYWGQGLVTVSA	SEQ ID NO: 76

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena V_L que tiene una secuencia correspondiente a una secuencia seleccionada de una de las secuencias en la tabla a continuación:

Cadena	Secuencia (N→C)	Identificador
35 huM25 V _L	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPG GAVKFLIYYTSSLRHSVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDF ATYFCQQGEALPWTFFGGGKVEIK	SEQ ID NO: 17
40 huAD208.4.1 V _L	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSSYSYMHWYQ QKPGQPPKLLIKYASSLESQVDFRSGSGSGTDFTLTISSLQ AEDVAVYYCEQSWEIRTFGGGKVEIK	SEQ ID NO: 27
45 huAD208.12.1 V _L	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSSSNLHWYQQKPG QAPRVLIKYVSQSIGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYFCQQSNSWPFTFGGKLEIK	SEQ ID NO: 37
50 huAD208.14.1 V _L	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYNYMHWYQ QKPGQPPKLLVYASNLESQVDFRSGSGSGTDFTLTISSL QAEDVAVYYCHHTWEIRTFGGGKVEIK	SEQ ID NO: 47
55 hu139.10 V _L	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSTYNYMHWYQ YQQKPGQSPKLLIYWASTRESQVDFRSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCKQSYNLPFTFGGKVEIK	SEQ ID NO: 57
60 muAD210.40.9 V _L	QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVYSSYLHWYQQK PGSSPKLWIYSTSNLASGVPGRFSGSGSGTSYSLTISSMEAE DAATYYCHQYHRSPTFGGKLEIK	SEQ ID NO: 67
65 muAD209.9.1 V _L	DIVMTQAAPSVPTPGESVSISSCRSSKLLHNSGNTHLYWF LQRPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTLRISRV EAEDVGVYYCMQLLEYPYTFGGGKLEIE	SEQ ID NO: 77

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo y/o fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 comprende:

una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 16 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 17; o

una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 26 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 27; o

- una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 36 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 37; o
- 5 una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 46 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 47; o
- una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 56 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 57; o
- 10 una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 66 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 67; o
- una cadena V_H que tiene una secuencia correspondiente a SEQ ID NO: 76 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 77.
- 15 Los ADC anti-huLRRC15 tienen innumerables usos, y en particular son útiles terapéuticamente para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) en humanos. Por consiguiente, en algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 y/o un fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 es adecuado para la administración a humanos. En una modalidad específica, el anticuerpo anti-huLRRC15 es humanizado. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-huLRRC15 humanizado y/o el fragmento de unión de un ADC anti-huLRRC15 es un anticuerpo y/o fragmento de unión que comprende una cadena V_H que corresponde en secuencia a SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 56 y una cadena V_L correspondiente en secuencia a SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 47 o SEQ ID NO: 57. En algunos aspectos, el anticuerpo humanizado anti-huLRRC15 y/o el fragmento de unión es un anticuerpo de longitud completa seleccionado de huM25, huM25-S239C, huAD208.4.1, huAD208.4.1-S239C, huAD208.12.1, huAD208.14.1 y hu139.10.
- 20 En algunas formas de modalidad, un anticuerpo anti-huLRRC15 y/o fragmento de unión de anticuerpo de un ADC anti-huLRRC15 es una IgG₁.
- 30 En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena pesada que tiene una región constante correspondiente en secuencia a los residuos 121-450 de la SEQ ID NO: 18 de acuerdo a la numeración de secuencia lineal de aminoácidos.
- 35 En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena ligera que tiene una región constante correspondiente en secuencia a los residuos 108-214 de la SEQ ID NO: 19 de acuerdo a la numeración de secuencia lineal de aminoácidos.
- 40 En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 comprende una cadena pesada que tiene una región constante correspondiente en secuencia a los residuos 121-450 de la SEQ ID NO: 18 y una cadena ligera que tiene una región constante correspondiente en secuencia a los residuos 108-214 de la SEQ ID NO: 19 de acuerdo a la numeración de secuencia lineal de aminoácidos.
- 45 Los anticuerpos anti-huLRRC15 y/o los fragmentos de unión de un ADC anti-huLRRC15 compiten por unirse a huLRRC15 en las células que expresan huLRRC15, o al sECD de huLRRC15, en ensayos *in vitro* con un anticuerpo de referencia. El anticuerpo de referencia puede ser cualquier anticuerpo que se una específicamente a huLRRC15 dentro de una región del sECD. Los anticuerpos de referencia incluyen huM25, huM25-S239C, huAD208.4.1, huAD208.4.1-S239C, huAD208.12.1, huAD208.14.1, hu139.10, muAD210.40.9 o muAD209.9.1.
- 50 En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:
- EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYKFSYWIEWVVKQAPGQGLEWIGEILPGSDTTNYNEKFKDRATFTSDTSIN
TAYMELSRLRSDDTAVYYCARDRGNYRAWFGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVIVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKHTHTCP
55 PCPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:
100),
- 60 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 19, en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones constantes.
- En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:
- 65

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYKFSYWIEWVKQAPGGQLEWIGEILPGSDTTNYNEKFKDRATFTSDTSIN
TAYMELSRRLSDDTAVYYCARDRGNYRAWFGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
5 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPG (SEQ ID NO:
102),

y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 19, en donde los aminoácidos
10 subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones constantes.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRR15 de un ADC anti-huLRR15 tiene una secuencia de
aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:

15 EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYKFSYWIEWVKQAPGGQLEWIGEILPGSDTTNYNEKFKDRATFTSDTSIN
TAYMELSRRLSDDTAVYYCARDRGNYRAWFGYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
PEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
20 VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPG (SEQ ID NO:
103),

y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 19, en donde los aminoácidos
25 subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones constantes.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-huLRR15 de un ADC anti-huLRR15 tiene una secuencia de
aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 18 o 102;
y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con:

30 DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGGAVKFLIYTSRLHSGVPSRFSGSGSDTYTLTISSL
QPEDFATYFCQQGEALPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ
SGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEA (SEQ ID NO: 110),

35 en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones
constantes.

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo anti-huLRR15 de un ADC anti-huLRR15 tiene una
secuencia de aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:

40 EVOLVOSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFTFT DYYIH WVKOAPGOOGLEWIG LVYPYIGGTNYNOKFKG
KATLTVDTSTTTAYMEMSSLRSEDVAVYYCA RGDNKYDAMDY WGOGTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE
45 VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK (SEQ ID NO: 28);

y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con:

50 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASSLESGVPDRF
SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCEQSWEIRTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
55 GLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 29),

en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones constantes.

60 Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo anti-huLRR15 de un ADC anti-huLRR15 tiene una
secuencia de aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:

65 EVOLVOSGAEVKKPGSSSEQ ID NO: 29, TDYYIHWVKOAPGOOGLEWIGLVYPYIGGTNYNOKFKGKATLTVDTSTT
TAYMEMSSLRSEDVAVYYCARGDNKYDAMDYWGOGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF
EPVTVSWNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

*LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK* (SEQ ID NO:
101);

5 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 29,
en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones
constantes.

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 tiene una
secuencia de aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:

10 EVOLVOSGAEVKKPGSSVKVSCASGFTFTDYIHWVWKOAPGOGLVWIGLVYPYIGGTNYNOKFKGKATLTVDTSTT
TAYMEMSSLRSEDTAVYYCARGDNKYDAMDYWGOGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
15 CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:104);

20 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 29,
en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones
constantes.

Como se describe en la presente descripción, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 tiene una
secuencia de aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con:

25 EVOLVOSGAEVKKPGSSVKVSCASGFTFTDYIHWVWKOAPGOGLVWIGLVYPYIGGTNYNOKFKGKATLTVDTSTT
TAYMEMSSLRSEDTAVYYCARGDNKYDAMDYWGOGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP
CPAPPELLGGPCVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
30 LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 105);

35 y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 29,
en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones
constantes.

Descrito en la presente descripción, un anticuerpo anti-huLRRC15 de un ADC anti-huLRRC15 tiene una secuencia de
aminoácidos de cadena pesada (N→C) de acuerdo con la SEQ ID NO: 28 o 104;
y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera (N→C) de acuerdo con:

40 DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCRASQSVSTSSYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASSLESQVDFR
SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCEQSWIEIRTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ
45 GLSSPVTKSFNRGEA (SEQ ID NO: 111),

50 en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones
constantes.

Los ensayos de competencia incluyen, pero no se limitan a, un inmunoensayo marcado con material radiactivo (RIA),
un ensayo inmunoabsor(SEQ ID NO: 111), (ELISA), un ELISA *sándwich*, ensayos de citometría de flujo y ensayos
de resonancia de plasmón de superficie.

55 En un método ilustrativo para realizar un ensayo de competencia de anticuerpos entre un anticuerpo de referencia y
un anticuerpo de prueba (independientemente de la especie o el isotipo), primero se puede marcar el de referencia
con un marcador detectable, como un fluoróforo, biotina o enzimático (o incluso un marcador radiactivo) para permitir
la posterior detección. En este caso, las células que expresan huLRRC15, o el sECD de huLRRC15, se incuban con
un anticuerpo de prueba no marcado, se agrega el anticuerpo de referencia marcado y se mide la intensidad del
60 marcador unido. Si el anticuerpo de prueba compite con el anticuerpo de referencia marcado uniéndose al mismo
epítipo proximal o superpuesto, la intensidad de la señal de detección disminuirá en relación con una reacción de
control llevada a cabo sin el anticuerpo de prueba.

65 En un ejemplo específico de este ensayo, primero se determina la concentración de anticuerpo de referencia marcado
que produce el 80 % de la unión máxima ("conc_{80%}") en las condiciones del ensayo (por ejemplo, una densidad

específica de células o una concentración específica del sECD), y se realiza un ensayo de competencia con el anticuerpo de prueba no marcado 10X conc_{80%} y la conc_{80%} del anticuerpo de referencia marcado.

En otro método ilustrativo para llevar a cabo un ensayo de competencia utilizando citometría de flujo, las células que expresan huLRRC15 se incuban con una serie de anticuerpos de valoración que comprende cantidades crecientes del anticuerpo de prueba no marcado con respecto al anticuerpo de referencia anti-huLRRC15 marcado con fluorescencia. El anticuerpo de referencia anti-huLRRC15 marcado se usa a una concentración fija X (por ejemplo, X = 1 µ/ml) y el anticuerpo de prueba no marcado se usa en un rango de concentraciones (por ejemplo, de 10⁻⁴X a 100X). Las células o sECD se incuban simultáneamente con el anticuerpo de prueba no marcado y el anticuerpo de referencia marcado. Los datos de citometría de flujo se normalizan en relación con el anticuerpo de referencia marcado con fluorescencia solo, donde la intensidad de fluorescencia de una muestra preparada sin anticuerpo de prueba no marcado se asigna como el 100 % de unión. Si un anticuerpo de prueba compite por unirse a huLRRC15 con el anticuerpo de referencia marcado, un ensayo realizado con la misma concentración de cada uno (por ejemplo, 1 µg/ml de anticuerpo de prueba no marcado y 1 µg/ml de anticuerpo de referencia marcado) producirá un aproximadamente 50 % de reducción en la intensidad de fluorescencia en comparación con el 100 % del control, lo que indica aproximadamente un 50 % de unión.

La inhibición puede expresarse como una constante de inhibición, o K_i, que se calcula de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$K_i = IC_{50} / (1 + [\text{concentración de Ab de referencia}] / K_d),$$

donde IC₅₀ es la concentración de anticuerpo de prueba que produce una reducción del 50 % en la unión del anticuerpo de referencia y K_d es la constante de disociación del anticuerpo de referencia, una medida de su afinidad por huLRRC15. Los anticuerpos que compiten con los anticuerpos de referencia anti-huLRRC15 pueden tener una K_i de 10 pM a 10 nM en condiciones de ensayo descritas en la presente descripción.

Como se describe en la presente descripción, se considera que un anticuerpo de prueba compite con un anticuerpo de referencia si disminuye la unión del anticuerpo de referencia a las células que expresan huLRRC15 o el sECD en al menos aproximadamente 20 % o más, por ejemplo, en al menos aproximadamente 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso más, o en un porcentaje que varía entre cualquiera de los valores anteriores, a una concentración del anticuerpo de referencia que es 80 % de la unión máxima bajo las condiciones de ensayo específicas utilizadas y una concentración del anticuerpo de prueba que es 10 veces mayor que la concentración del anticuerpo de referencia.

En varios ensayos de competencia utilizando citometría de flujo, se considera que un anticuerpo de prueba compite con un anticuerpo de referencia si disminuye la unión del anticuerpo de referencia a las células que expresan huLRRC15 en al menos aproximadamente un 20 % o más, por ejemplo, en al menos aproximadamente un 20 % 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso más, o en un porcentaje que varía entre cualquiera de los valores anteriores, a una concentración del anticuerpo de prueba que es 10 veces mayor que la concentración del anticuerpo de referencia.

En el Ejemplo 3 se proporciona un ensayo específico y condiciones de ensayo útiles para evaluar si un anticuerpo compite por unirse a huLRRC15 con un anticuerpo de referencia como se describe en la presente descripción.

Los anticuerpos anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción pueden usarse en un contexto diferente de ADC para una variedad de propósitos, tales como para ayudar en la purificación de huLRRC15 y/o huLRRC15 sECD, diagnósticos *in vitro*, *in vivo* y *ex vivo*, tinción de células y/o tejidos, etcétera. Como un ejemplo específico, los anticuerpos tienen uso en inmunoensayos para medir cualitativa y/o cuantitativamente los niveles de huLRRC15 en muestras biológicas. Véase, por ejemplo, Harlow y otros, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Segunda edición (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988).

Para tales usos, la detección puede facilitarse mediante el acoplamiento del anticuerpo a una sustancia detectable. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen varias enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos, metales emisores de positrones que utilizan diversas tomografías de emisión de positrones e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. La sustancia detectable puede acoplarse o conjugarse directamente al anticuerpo (o fragmento del mismo) o indirectamente, a través de un intermediario (como, por ejemplo, un conector conocido en la técnica) usando técnicas conocidas en la técnica. Los ejemplos de marcadores enzimáticos incluyen luciferasas (por ejemplo, luciferasa de luciérnaga y luciferasa bacteriana; patente de Estados Unidos núm. 4,737,456), luciferina, 2,3-dihidroftalazinedionas, malato deshidrogenasa, ureasa, peroxidasa tal como la peroxidasa de rábano picante (HRPO), fosfatasa alcalina, β-galactosidasa, acetilcolinesterasa, glucoamilasa, lisozima, sacárido oxidasas (por ejemplo, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa), oxidasas heterocíclicas (como uricasa y xantina oxidasa), lactoperoxidasa, microperoxidasa y similares. Los ejemplos de complejos de grupos prostéticos adecuados incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina; ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina, fluoresceína, cloruro de dansilo o

ficoeritrina; un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol; ejemplos de materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aequorina; y ejemplos de materiales radiactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In o $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

5 La detección de la expresión de huLRRC15 generalmente implica poner en contacto una muestra biológica (células, tejidos o fluido corporal de un individuo) con uno o más anticuerpos anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción (opcionalmente conjugado con una porción detectable), y detectar si la muestra es positiva o no a la expresión de huLRRC15, o si la muestra tiene una expresión alterada (por ejemplo, reducida o aumentada) en comparación con una muestra de control.

10 7.3.2. Polinucleótidos que codifican anticuerpos anti-huLRRC15, sistemas de expresión y métodos para producir anticuerpos

15 Los anticuerpos anti-huLRRC15 pueden prepararse mediante la expresión recombinante de genes de la cadena ligera y pesada de la inmunoglobulina en una célula hospedero. Para expresar un anticuerpo de forma recombinante, una célula hospedero se transfecta con uno o más vectores de expresión recombinantes que contienen fragmentos de ADN que codifican las cadenas ligeras y pesadas de la inmunoglobulina del anticuerpo, de manera que las cadenas ligeras y pesadas se expresan en la célula hospedero y, opcionalmente, se secretan en el medio en el que se cultivan las células hospedero, a partir del cual pueden recuperarse los anticuerpos. Las metodologías estándares de ADN recombinante se utilizan para obtener los genes de las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos, incorporar estos genes en vectores de expresión recombinantes e introducir los vectores en células hospedero, como se describe en Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Segunda Edición (Sambrook, Fritsch y Maniatis (edición), Cold Spring Harbor, NY, 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, FM y otros, Edición, Greene Publishing Associates, 1989) y en la Patente de Estados Unidos núm. 4,816,397.

25 Para generar ácidos nucleicos que codifican tales anticuerpos anti-huLRRC15, primero se obtienen fragmentos de ADN que codifican las regiones variables de las cadenas ligera y pesada. Estos ADN pueden obtenerse mediante amplificación y modificación de ADN de línea germinal o ADNc que codifica secuencias variables de las cadenas ligera y pesada, por ejemplo, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las secuencias de ADN de línea germinal para genes de la región variable de las cadenas ligera y pesada humana se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, la base de datos de secuencias de la línea germinal humana "VBASE"; véase también Kabat y otros, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, Publicación NIH núm. 91-3242; Tomlinson y otros 1992, J. Mol. Biol. Biol. 22T:116-198; y Cox y otros, 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836).

35 Una vez que se obtienen los fragmentos de ADN que codifican los segmentos V_H y V_L relacionados con el anticuerpo anti-huLRRC15, estos fragmentos de ADN pueden manipularse adicionalmente mediante técnicas estándar de ADN recombinante, por ejemplo, para convertir los genes de la región variable en genes de las cadenas de anticuerpos de longitud completa, en genes de fragmento Fab o un gen scFv. En estas manipulaciones, un fragmento de ADN que codifica V_L o V_H se une operativamente a otro fragmento de ADN que codifica otra proteína, como una región constante de un anticuerpo o un conector flexible. El término "unido operativamente", como se usa en este contexto, pretende significar que los dos fragmentos de ADN están unidos de tal manera que las secuencias de aminoácidos codificadas por los dos fragmentos de ADN permanecen en el mismo marco de lectura.

45 El ADN aislado que codifica la región V_H puede convertirse en un gen de cadena pesada de longitud completa uniendo operativamente el ADN que codifica la V_H a otra molécula de ADN que codifica regiones constantes de la cadena pesada (CH_1 , CH_2 , CH_3 y, opcionalmente, CH_4). Las secuencias de los genes de la región constante de la cadena pesada humana se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Kabat y otros, 1991, Proteins of Immunological Interest, Quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, Publicación NIH núm. 91-3242) y los fragmentos de ADN que abarcan estas regiones pueden obtenerse mediante amplificación estándar por PCR. La región constante de la cadena pesada puede ser una región constante de IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA, IgE, IgM o IgD, pero en ciertas modalidades es una región constante de IgG₁ o IgG₄. Para un gen de la cadena pesada del fragmento Fab, el ADN que codifica la V_H puede unirse operativamente a otra molécula de ADN que codifica solo la región constante CH_1 de la cadena pesada.

55 El ADN aislado que codifica la región V_L se puede convertir en un gen de cadena ligera de longitud completa (así como también en un gen de cadena ligera de Fab) uniendo operativamente el ADN que codifica la V_L a otra molécula de ADN que codifica la región constante de la cadena ligera, C_L . Las secuencias de los genes de la región constante de la cadena ligera humana se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Kabat y otros, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta Edición, Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos, Publicación NIH núm. 91-3242) y los fragmentos de ADN que abarcan estas regiones pueden obtenerse mediante amplificación estándar por PCR. La región constante de la cadena ligera puede ser una región constante kappa o lambda, pero en ciertas modalidades es una región constante kappa. Para crear un gen de scFv, los fragmentos de ADN que codifican las V_H y V_L se unen operativamente a otro fragmento que codifica un conector flexible, por ejemplo, que codifica la secuencia de aminoácidos (Gly₄~Ser)₃ (SEQ ID NO: 82), de manera que las secuencias de V_H y V_L pueden expresarse como una proteína de cadena única contigua, con las regiones V_L y V_H unidas por el conector flexible (véase, por

ejemplo, Bird y otros, 1988, Science 242:423 -426; Huston y otros, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos 85:5879-5883; McCafferty y otros, 1990, Nature 348:552-554).

5 Para expresar los anticuerpos anti-huLRRRC15, los ADN que codifican las cadenas ligera y pesada de longitud parcial o completa, obtenidos como se describe anteriormente, se insertan en vectores de expresión de modo que los genes se unen operativamente a secuencias de control transcripcional y traduccional. En este contexto, el término "unido operativamente" significa que un gen de un anticuerpo está ligado a un vector de tal manera que las secuencias de control transcripcional y traduccional dentro del vector cumplen su función prevista de regular la transcripción y traducción del gen del anticuerpo. El vector de expresión y las secuencias de control de la expresión se escogen para 10 que sean compatibles con la célula hospedero de expresión utilizada. El gen de la cadena ligera del anticuerpo y el gen de la cadena pesada del anticuerpo pueden insertarse en vectores separados o, más típicamente, ambos genes se insertan en el mismo vector de expresión.

15 Los genes del anticuerpo se insertan en el vector de expresión mediante métodos estándar (por ejemplo, ligación de sitios de restricción complementarios en el fragmento y vector del gen del anticuerpo, o ligación de extremo romo si no presenta sitios de restricción). Antes de la inserción de las secuencias de la cadena ligera o pesada relacionadas con el anticuerpo anti-huLRRRC15, el vector de expresión ya puede contener secuencias de la región constante del anticuerpo. Por ejemplo, un enfoque para convertir las secuencias de V_H y V_L relacionadas con anticuerpos monoclonales anti-hPG en genes de anticuerpos de longitud completa es insertarlas en vectores de expresión que ya 20 codifican regiones constantes de la cadena pesada y la cadena ligera, respectivamente, de modo que el segmento V_H está unido operativamente al segmento C_H dentro del vector y el segmento V_L está unido operativamente al segmento C_L dentro del vector. Adicional o alternativamente, el vector de expresión recombinante puede codificar un péptido señal que facilita la secreción de la cadena del anticuerpo desde una célula hospedero. El gen de la cadena del anticuerpo puede clonarse en el vector de manera que el péptido señal se una en marco al extremo amino del gen de la cadena del anticuerpo. El péptido señal puede ser un péptido señal de inmunoglobulina o un péptido señal heterólogo (es decir, un péptido señal de una proteína que no es una inmunoglobulina).

Además de los genes de la cadena del anticuerpo, los vectores de expresión recombinantes contienen secuencias reguladoras que controlan la expresión de los genes de la cadena del anticuerpo en una célula hospedero. El término 30 "secuencia reguladora" pretende incluir promotores, potenciadores y otros elementos de control de la expresión (por ejemplo, señales de poliadenilación) que controlan la transcripción o traducción de los genes de la cadena del anticuerpo. Dichas secuencias reguladoras se describen, por ejemplo, en Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA, 1990. Los expertos en la materia apreciarán que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de secuencias reguladoras, puede depender de factores tales como la elección de la célula hospedero a transformar, el nivel de expresión de proteína deseado, etcétera. Las 35 secuencias reguladoras adecuadas para la expresión en células hospedero de mamíferos incluyen elementos virales que promueven altos niveles de expresión de proteínas en las células de mamíferos, tales como promotores y/o potenciadores derivados del citomegalovirus (CMV) (como el promotor/potenciador CMV), Simian Virus 40 (SV40) (como el promotor/potenciador SV40), adenovirus, (por ejemplo, el promotor tardío principal de adenovirus (AdMLP)) y polioma. Para una descripción más detallada de los elementos reguladores virales y sus secuencias, véase, por 40 ejemplo, la Patente de Estados Unidos núm. 5,168,062 de Stinski, la Patente de Estados Unidos núm. 4,510,245 de Bell y otros y la Patente de Estados Unidos núm. 4,968,615 de Schaffner y otros.

45 Los vectores de expresión recombinantes de la descripción pueden transportar secuencias además de los genes de la cadena de anticuerpos y las secuencias reguladoras, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en las células hospedero (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes de marcadores seleccionables. Los genes de marcadores seleccionables facilitan la selección de las células hospedero en las que se ha introducido el vector (véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos núm. 4,399,216, 4,634,665 y 5,179,017, todas por Axel y otros). Por ejemplo, típicamente un gen de marcador seleccionable confiere resistencia a fármacos, como G418, higromicina o metotrexato, en una célula hospedero en la que se introdujo el vector. Los genes de marcadores seleccionables 50 adecuados incluyen el gen de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (para uso en células hospedero DHFR⁺ con selección/amplificación con metotrexato) y el gen neo (para selección con G418). Para la expresión de las cadenas ligera y pesada, los vectores de expresión que codifican las cadenas pesada y ligera se transfectan en una célula hospedero mediante técnicas estándares. Las diversas formas del término "transfección" pretenden abarcar una amplia variedad de técnicas usadas comúnmente para la introducción de ADN exógeno en una célula hospedero 55 procariota o eucariota, por ejemplo, electroporación, lipofección, precipitación con fosfato de calcio, transfección con DEAE-dextrano y similares.

60 Es posible expresar anticuerpos anti-huLRRRC15 de un ADC anti-huLRRRC15 en células hospedero procariotas o eucariotas. En ciertos aspectos, la expresión de anticuerpos se realiza en células eucariotas, por ejemplo, células hospedero de mamíferos, de secreción óptima de un anticuerpo plegado e inmunológicamente activo. Las células hospedero de mamífero ilustrativas para la expresión de los anticuerpos recombinantes de la descripción incluyen las de ovario de hámster chino (células CHO) (incluyendo las células DHFR⁺CHO, descritas en Urlaub y Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos 77:4216-4220, usadas con un marcador de selección DHFR, por ejemplo, como se describe en RJ Kaufman y PA Sharp (1982) Mol. Biol. 159: 601-621), células de mieloma NS0, células COS y 65 células SP2. Cuando los vectores de expresión recombinantes que codifican los genes de los anticuerpos se

5 introducen en células hospedero de mamífero, los anticuerpos se producen cultivando las células hospedero durante un período de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedero o la secreción del anticuerpo hacia el medio de cultivo en el que crecen las células hospedero. Los anticuerpos pueden recuperarse del medio de cultivo mediante el uso de métodos estándares de purificación de proteínas. Las células hospedero también pueden usarse para producir fragmentos funcionales de anticuerpos, tal como fragmentos Fab o moléculas scFv. Se entenderá que las variaciones en el procedimiento anterior están dentro del alcance de la presente descripción. Por ejemplo, puede ser conveniente transfectar una célula hospedero con ADN que codifique la cadena ligera o la cadena pesada (pero no ambas) de un anticuerpo anti-huLRRc15.

10 La tecnología de ADN recombinante también puede usarse para eliminar parte o la totalidad del ADN que codifica una o ambas cadenas ligera y pesada que no es necesaria para la unión a huLRRc15. Las moléculas expresadas a partir de tales moléculas de ADN trunca también son abarcadas por los anticuerpos de la descripción.

15 Para la expresión recombinante de un anticuerpo anti-huLRRc15, la célula hospedero puede cotransfectarse con dos vectores de expresión, el primer vector codifica un polipéptido derivado de la cadena pesada y el segundo vector codifica un polipéptido derivado de la cadena ligera. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos, o cada uno puede contener un marcador seleccionable separado. Alternativamente, puede usarse un solo vector que codifica tanto el polipéptido de la cadena pesada como de la ligera.

20 Una vez que se obtiene un ácido nucleico que codifica una o más porciones de un anticuerpo anti-huLRRc15, pueden introducirse más alteraciones o mutaciones en la secuencia codificante, por ejemplo, para generar ácidos nucleicos que codifican anticuerpos con diferentes secuencias de CDR, anticuerpos con afinidad reducida al receptor de Fc o anticuerpos de diferentes subclases.

25 Los anticuerpos y/o fragmentos de unión de ADC anti-huLRRc15 también pueden producirse mediante síntesis química (por ejemplo, mediante los métodos descritos en Solid Phase Peptide Synthesis, 2da edición, 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.). Los anticuerpos variantes también pueden generarse usando una plataforma libre de células, véase, por ejemplo, Chu y otros, Biochemia núm. 2, 2001 (Roche Molecular Biologicals) y Murray y otros, 2013, Current Opinion in Chemical Biology, 17:420-426.

30 Una vez que se produce un anticuerpo anti-huLRRc15 y/o un fragmento de unión por expresión recombinante, se puede purificar por cualquier método conocido en la técnica para la purificación de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo, por cromatografía (por ejemplo, intercambio iónico, afinidad, y cromatografía por tamaño en columna), centrifugación, solubilidad diferencial, o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Además, los anticuerpos anti-huLRRc15 y/o los fragmentos de unión pueden fusionarse con las secuencias de polipéptidos heterólogos descritos en la presente descripción o conocidos en la técnica para facilitar la purificación.

35 Una vez aislado, el anticuerpo anti-huLRRc15 y/o el fragmento de unión pueden, si se desea, purificarse adicionalmente, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alta resolución. (Véase, por ejemplo, Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry And Molecular Biology, Work y Burdon, edición, Elsevier, 1980), o por cromatografía de filtración en gel en una columna Superdex™ 75 (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Suecia).

7.4. Conjugados específicos fármaco-anticuerpo anti-huLRRc15

45 Como se mencionó, los ADC anti-huLRRc15 generalmente comprenden una porción de anti-huLRRc15 de unión al antígeno, tal como un anticuerpo anti-huLRRc15 y/o un fragmento de unión, que tiene uno o más agentes citotóxicos y/o citostáticos, que pueden ser iguales o diferentes, unidos a través de uno o más conectores, que también pueden ser iguales o diferentes. En modalidades específicas, los ADC anti-huLRRc15 son compuestos de acuerdo con la fórmula estructural (I):

50 (I) $[DL\text{-}XY]_n\text{-Ab}$

o sales de los mismos, donde cada "D" representa, independientemente de los demás, un agente citotóxico y/o citostático ("fármaco"); cada "L" representa, independientemente de los demás, un conector; "Ab" representa una porción de anti-huLRRc15 de unión al antígeno, tal como un anticuerpo anti-huLRRc15 o un fragmento de unión; cada "XY" representa un enlace formado entre un grupo funcional R^x en el conector y un grupo funcional "complementario" R^y en la porción de unión al antígeno; y n representa el número de fármacos unidos al Ab, o la relación fármaco a anticuerpo (DAR), del ADC.

60 Las modalidades específicas de varios anticuerpos o fragmentos de unión (Ab) que pueden componer los ADC de acuerdo con la fórmula estructural (I) incluyen las diversas modalidades de anticuerpos anti-huLRRc15 y/o fragmentos de unión descritos anteriormente.

En algunas modalidades específicas de los ADC o sales de fórmula estructural (I), cada D es igual y/o cada L es igual.

65

Las modalidades específicas de los agentes citotóxicos y/o citostáticos (D) y los conectores (L) que pueden componer los ADC anti-huLRRC15, así como también el número de agentes citotóxicos y/o citostáticos unidos a los ADC anti-huLRRC15, se describen en más detalle a continuación.

5 7.4.1. Agentes citotóxicos y/o citostáticos

Los agentes citotóxicos y/o citostáticos pueden ser cualquiera de los agentes que se conoce que inhiben el crecimiento y/o la replicación y/o destruyen células, y en particular células cancerosas y/o tumorales. En la literatura se conocen numerosos agentes que tienen propiedades citotóxicas y/o citostáticas. Los ejemplos no limitantes de clases de agentes citotóxicos y/o citostáticos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, radionúclidos, agentes alquilantes, agentes de entrecruzamiento de ADN, agentes intercalantes de ADN (por ejemplo, agentes de unión a surcos tales como de unión al surco menor), moduladores del ciclo celular, reguladores de la apoptosis, inhibidores de quinasas, inhibidores de la síntesis de proteínas, inhibidores de la mitocondria, inhibidores de la exportación nuclear, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos de ARN/ADN y agentes antimetabólicos.

15 A continuación, se describen ejemplos específicos no limitantes de agentes dentro de ciertas de estas diversas clases.

Agentes alquilantes: asaley (L-leucina, N-[N-acetil-4-[bis-(2-cloroetil)amino]-DL-fenilalanilo]-, etiléster); AZQ (ácido 1,4-ciclohexadieno-1,4-dicarbámico, 2, 5-bis(1-aziridinil)-3,6-dioxo-, éster dietílico); BCNU (N,N'-Bis(2-cloroetil)-N-nitrosourea); busulfano (dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol); (carboxifalato) platino; CBDCA (cis-(1,1-ciclobutanodicarboxilato) diamineplatino (II)); CCNU (N-(2-cloroetil)-N'-ciclohexil-N-nitrosourea); CHIP (iproplatino; NSC 256927); clorambucilo; clorozotocina (2-[[[(2-cloroetil)nitrosoamino]carbonil]amino]-2-desoxi-D-glucopiranososa); *cis*-platino (cisplatino); clomesona; cianomorfolinodoxorrubicina; ciclodisona; dianhidrogalactitol (5,6-diepoxidulcitol); fluorodopano ((5-[(2-cloroetil)-(2-fluoroetil)amino]-6-metil-uracilo); hepsulfam; hicantona; dímero de indolinobenzodiazepina DGN462; melfalán; metilo CCNU ((1-(2-cloroetil)-3-(trans-4-metilciclohexano)-1-nitrosourea); mitomicina C; mitozolamida; mostaza nitrogenada (clohidrato de(bis(2-cloroetil)metilamina); PCNU ((1-(2-cloroetil)-3-(2,6-dioxo-3-piperidil)-1-nitrosourea)); alquil piperazina (diclorhidrato de (1-(2-cloroetil)-4-(3-cloropropil)-piperazin)); piperazinediona; pipobromano (N,N'-bis(3-bromopropionil)piperazina); porfiromicina (N-metilmitomicina C); mostaza de espirohiantoína; teroxirona (triglicidilisocianurato); tetraplatino; tio-tepa (N,N,N"-tri-1,2-etanoditiiltiofosforamida); mostaza de uracilo nitrogenada (desmetildopan); Yoshi-864 (clorhidrato de bis(3-mesiloxipropil)amina).

Agentes de tipo de alquilación de ADN: Cisplatino; Carboplatino; Nedaplatino; Oxaliplatino; Satraplatino; Tetranitrato de triplatino; Procarbazona; altretamina; dacarbazina; mitozolomida; temozolomida.

35 **Agentes alquilantes antineoplásicos:** Carboquona; Carmustina; Clornafazina; Clorozotocina; Duocarmicina; Evofosfamida; Fotemustina; Glufosfamida; Lomustina; Manosulfan; Nimustina; Fenantriplatino; Pipobromano; Ranimustina; Semustino; Estreptozotocina; TioTEPA; Treosulfan; Triazuquona; Trietilenomelamina; Tetranitrato de triplatino.

40 **Inhibidores de la replicación y reparación del ADN:** Altretamina; Bleomicina; Dacarbazina; Dactinomicina; Mitobronitol; Mitomicina; Pingyangmicina; Plicamicina; Procarbazona; Temozolomida; ABT-888 (veliparib); olaparib; KU-59436; AZD-2281; AG-014699; BSI-201; BGP-15; INO-1001; ONO-2231.

45 **Moduladores del Ciclo Celular:** Paclitaxel; Nab-paclitaxel; Docetaxel; Vincristina; Vinblastina; ABT-348; AZD-1152; MLN-8054; VX-680; Inhibidores de quinasa específicos para Aurora A; Inhibidores de quinasa específicos para Aurora B e inhibidores de quinasa pan-Aurora; AZD-5438; BMI-1040; BMS-032; BMS-387; CVT-2584; flavopiridol; GPC-286199; MCS-5A; PD0332991; PHA-690509; seliciclib (CYC-202, R-roscovitina); ZK-304709; AZD4877, ARRY-520; GSK923295A.

50 **Reguladores de apoptosis:** AT-101 ((-)-gospol); G3139 u oblimersen (oligonucleótido antisentido dirigido a Bcl-2); IPI-194; IPI-565; N-(4-(4-((4'-cloro(1,1'-bifenil)-2-il)metil)piperazin-1-ilbenzoil)-4-(((1R)-3-(dimetilamino)-1-((fenilsulfanil)metil)propil) amino)-3-nitrobencenosulfonamida); N-(4-(4-((2-(4-clorofenil)-5,5-dimetil-1-ciclohex-1-en-1-il)metil)piperazin-1-il)benzoil)-4-(((1R)-3-(morfolin-4-il)-1-((fenilsulfanil)metil)propil)amino)-3-((trifluorometil)sulfonil)bencenosulfonamida; GX-070 (Obatoclox®; 1H-Indol, 2-(2-((3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il)metileno)-3-metoxi-2H-pirrol-5-ilo)-)); HGS1029; GDC-0145; GDC-0152; LCL-161; LBW-242; venetoclax; agentes que se dirigen a TRAIL o receptores de muerte (por ejemplo, DR4 y DR5) tales como ETR2-ST01, GDC0145, HGS-1029, LBY-135, PRO-1762; fármacos dirigidos a caspasas, reguladores de caspasas, miembros de la familia BCL-2, proteínas del dominio de muerte, miembros de la familia TNF, miembros de la familia Toll y/o proteínas NF-kappa-B.

60 **Inhibidores de angiogénesis:** ABT-869; AEE-788; axitinib (AG-13736); AZD-2171; CP-547,632; IM-862; pegaptamib; sorafenib; BAY43-9006; pazopanib (GW-786034); vatalanib (PTK-787, ZK-222584); sunitinib; SU-11248; Trampa de VEGF; vandetanib; ABT-165; ZD-6474; Inhibidores de DLL4.

Inhibidores del proteasoma: bortezomib; Carfilzomib; Epoxomicina; Ixazomib; Salinosporamida A.

65

5 **Inhibidores de quinasas:** afatinib; Axitinib; Bosutinib; Crizotinib; Dasatinib; Erlotinib; Fostamatinib; Gefitinib; Ibrutinib; Imatinib; Lapatinib; Lenvatinib; Mubritinib; Nilotinib; Pazopanib; Pegaptanib; Sorafenib; Sunitinib; SU6656; Vandetanib; Vemurafenib; CEP-701 (lesartinib); XL019; INCB018424 (ruxolitinib); ARRY-142886 (selemetinib); ARRY-438162 (binimetinib); PD-325901; PD-98059; AP-23573; CCI-779; everolimus; RAD-001; rapamicina; temsirolimus; Inhibidores de TORC1/TORC2 ATP competitivos, incluyendo PI-103, PP242, PP30, Torin 1; LY294002; XL-147; CAL-120; ONC-21; AEZS-127; ETP-45658; PX-866; GDC-0941; BGT226; BEZ235; XL765.

10 **Inhibidores de la síntesis de proteínas:** Estreptomina; Dihidroestreptomina; Neomicina; Framicetina; Paromomicina; Ribostamicina; Kanamicina; Amikacina; Arbekacina; Bekanamicina; Dibekacina; Tobramicina; Espectinomicina; Higromicina B; Paromomicina; Gentamicina; Netilmicina; Sisomicina; Ispamicina, verdamicina; Astromicina; Tetraciclina; Doxiciclina; Clortetraciclina; Clomociclina; Demeclociclina; Limeciclina; Meclociclina; Metaciclina; Minociclina; Oxitetraciclina; Penimepiciclina; Rolitetraciclina; Tetraciclina; Gliciliclinas, tigeiciclina; Oxazolidinona; Eperozolid; Linezolid; Posizolid; Radezolid; Ranbezolid; Sutezolid; Tedizolid; Inhibidores de peptidil transferasa; Cloranfenicol; Azidamfenicol; Tianfenicol; Florfenicol; Pleuromutilinas; Retapamulina; Tiamulina; 15 Valnemulina; Azitromicina; Claritromicina; Diritromicina; Eritromicina; Fluritromicina; Josamicina; Midecamicina; Miocamicina; Oleandomicina; Rokitamicina; Roxitromicina; Espiramicina; Troleandomicina; Tilosina; Cetóolidos; Telitromicina; Cetromicina; Solitromicina; Clindamicina; Lincomicina; Pirlimicina; Estreptograminas; Pristinamicina; Quinupristina/dalfopristina; Virginiamicina.

20 **Inhibidores de histona desacetilasa:** Vorinostat; Romidepsina; Quidamida; Panobinostat; Ácido valproico; Belinostat; Mocetinostat; Abexinostat; Entinostat; SB939 (pracinostat); Resminostat; Givinostat; Quisinostat; tiouredobutironitrilo (Kevetrin™); CUDC-10; CHR-2845 (tefinostat); CHR-3996; 4SC-202; CG200745; ACY-1215 (rocilinoestat); ME-344; sulforafano.

25 **Inhibidores de la topoisomerasa I:** camptotecina; diversos derivados y análogos de camptotecina (por ejemplo, NSC 100880, NSC 603071, NSC 107124, NSC 643833, NSC 629971, NSC 295500, NSC 249910, NSC 606985, NSC 74028, NSC 176323, NSC 295501, NSC 606172, NSC 606173, NSC 610458, NSC 618939, NSC 610457, NSC 610459, NSC 606499, NSC 610456, NSC 364830, y NSC 606497); morfolinisoxorrubicina; SN-38.

30 **Inhibidores de la topoisomerasa II:** doxorubicina; amonafida (benzisoquinolinediona); m-AMSA (4'-(9-acridinilamino)-3'-metoximetanosulfonilidato); derivado de antratzol ((NSC 355644); etopósido (VP-16); pirazoloacridina ((pirazolo[3,4,5-kl]acridina-2(6H)-propanamina, 9-metoxi-N,N-dimetil-5-nitro-, monometanosulfonato); clorhidrato de bisantreno; daunorrubicina; desoxdoxorubicina; mitoxantrona; menogaril; N,N-dibencil daunomicina; oxantrazol; rubidazona; tenipósido.

35 **Agentes intercalantes de ADN:** antramina; chicamicina A; tomamicina; DC-81; sibiromicina; derivado de pirrolobenzodiazepina; SGD-1882 ((S)-2-(4-aminofenil)-7-metoxi-8-(3-(((S)-7-metoxi-2-(4-metoxifenil)-5-oxo-5,11a-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]diazepin-8-il)oxi)propoxi)-1H-benzo [e]pirrolo[1,2-a][1,4]-5(11aH)-diazepinona); SG2000 (SJK-136; (11aS,11a'S)-8,8'-(propano-1,3-diilbis(oxi))bis(7-metoxi-2-metileno-2,3-dihidro-1H-benzo[e]pirrolo[1,2-a][1,4]-diazepinona-5(11aH))).

45 **Antimetabolitos de ARN/ADN:** L-alanosina; 5-azacitidina; 5-fluorouracilo; acivicina; derivado de aminopterina ácido N-[2-cloro-5-[[[(2, 4-diamino-5-metil-6-quinazolil)metil]amino]benzoil]L-aspártico (NSC 132483); derivado de aminopterina ácido N-[4-[[[(2, 4-diamino-5-etil-6-quinazolil)metil]amino]benzoil]L-aspártico; derivado de aminopterina N-[2-cloro-4-[[[(2, 4-diamino-6-pteridinil)metil] amino]benzoil]monohidrato de ácido L-aspártico; antifolato PT523 ((N⁹-4-amino-4-desoxipteroil)-N⁹-hemifitaloilo-L-ornitina)); Antifol soluble de Baker (NSC 139105); dicloralil lawsona ((2-(3,3-dicloroalil)-3-hidroxi-1,4-naftoquinona); brequinar; ftorafur ((profármaco); 5-fluoro-1-(tetrahydro-2-furil)-uracilo); 5,6-dihidro-5-azacitidina; metotrexato; derivado de metotrexato (ácido N-[4-[[[(2,4-diamino-6-pteridinil)metil] metilamino]-1-naftalenil]carbonil] L-glutámico); PALA ((N- (fosfonoacetil)-L-aspartato); pirazofurina; trimetrexato.

50 **Antimetabolitos de ADN:** 3-HP; 2'-desoxi-5-fluorouridina; 5-HP; α-TGDR (α-2'-desoxi-6-tioguanosina); glicinato de afidi-colina; ara C (arabinósido de citosina); 5-aza-2'-desoxicidina; β-TGDR (β-2'-desoxi-6-tioguanosina); ciclocitidina; guanazol; hidroxurea; inosina glicodialdehído; macbecina II; pirazoloimidazol; tioguanina; tiopurina.

55 **Inhibidores de mitocondrias:** pancratistatina; fenpanstatina; rodamina-123; edelfosina; succinato de d-alfa-tocoferol; compuesto 11β; aspirina; elipticina; berberina cerulenina; GX015-070 (Obatoclax®; 1H-Indol, 2-(2-((3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il)metileno)-3-metoxi-2H-pirrol-5-il)-); celastrol (tripterina); metformina verde brillante; ME-344.

60 **Agentes antimetabólicos:** alcolchicina; auristatinas, tales como MMAE (monometil auristatina E) y MMAF (monometil auristatina F); halicondrina B; cernadotina; colchicina; derivado de colchicina (N-benzoil-desacetil benzamida); dolastatina-10; dolastatina-15; maitansina; maitansinoides, tales como DM1 (N²'-desacetil-N²'- (3-mercapto-1-oxopropil)-maitansina); roxoxina; paclitaxel; derivado de paclitaxel ((2'-N-[3-(dimetilamino)propil]glutamato paclitaxel); docetaxel; tiocolchicina; tritil cisteína; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina.

Inhibidores de la exportación nuclear: calistatina A; delactonmicina; KPT-185 (propan-2-il(Z)-3-[3-[3-metoxi-5-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-triazol-1-il]-2-propenoato); kazusamicina A; leptostatina; leptofuranina A; leptomicina B; ratjadone; Verdinoxor ((Z)-3-[3-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-1,2,4-triazol-1-il]-N'-piridin-2-ilprop-2-enehidrazida).

5 **Terapias hormonales:** anastrozol; exemestano; arzoxifeno; bicalutamida; cetorelix; degarelix; deslorelina; trilostano; dexametasona; flutamida; raloxifeno; fadrozol; toremifeno; fulvestrant letrozol; formestano; glucocorticoides; doxercalciferol; carbonato de sevelámero; lasofoxifeno; acetato de leuprolida; megesterol; mifepristona nilutamida; citrato de tamoxifeno; abarelix; prednisona finasterida rilostano; buserelina; hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH); Histrelina; trilostano o modrastano; fosrelina; goserelina.

10 Cualquiera de estos agentes que incluyen, o que pueden modificarse para incluir, un sitio de unión a un anticuerpo y/o fragmento de unión puede incluirse en un ADC anti-huLRRC15.

15 Los datos presentados en la presente descripción demuestran que los ADC anti-huLRRC15 ejercen una potente actividad antitumoral contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) que está mediada, al menos en parte, por un efecto dirigido de eliminación de células en la vecindad. Por ejemplo, como se demuestra en la Figura 14A, las células que expresan huLRRC15 son sensibles *in vitro* a los ADC anti-huLRRC15 que contienen monometil auristatina E ("MMAE") o monometil auristatina F ("MMAF") como fármaco. Sin embargo, *in vivo*, los xenoinjertos de tumores PANC-1 huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) son sensibles al ADC anti-huLRRC15 de MMAE, mientras que el ADC anti-huLRRC15 de MMAF no reduce los tumores, como se muestra en la Figura 17B. Esto también se observa con los xenoinjertos de tumores EBC-1 huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-), como se demuestra en la Figura 15A. El MMAE liberado por los ADC internalizados en las células del estroma que expresan huLRRC15 es permeable en las células, lo que permite la muerte de las células cancerosas adyacentes a las células del estroma. MMAF no es permeable en las células, se retiene dentro de las células del estroma que expresan huLRRC15 y no migra para eliminar las células cancerosas en la vecindad. Las células del estroma que expresan huLRRC15 se dividen a una velocidad mucho más lenta que las células cancerosas *in vivo* y, por lo tanto, son intrínsecamente menos sensibles a los agentes antimetabólicos como MMAE y MMAF que las células cancerosas que se dividen rápidamente (como se muestra en la Figura 16). En conjunto, estos datos demuestran que los ADC anti-huLRRC15 que contienen agentes citostáticos y/o citotóxicos que penetran en las células ejercen actividad antitumoral contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) a través de la eliminación dirigida de células en la vecindad y son útiles terapéuticamente para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-).

35 En consecuencia, en algunas modalidades, los agentes citotóxicos y/o citostáticos incluidos en un ADC anti-huLRRC15 podrán, después de la escisión del ADC, atravesar las membranas celulares ("agentes citostáticos y/o citotóxicos permeables en las células"). Los agentes citotóxicos y/o citostáticos específicos de interés, y/o los productos de escisión de los ADC que incluyen dichos agentes, pueden analizarse para determinar la capacidad de atravesar las membranas celulares utilizando métodos de rutina conocidos por los expertos en la técnica. La permeabilidad (P) de las moléculas a través de una membrana se puede expresar como $P = KD/\Delta x$ donde K es el coeficiente de partición, D es el coeficiente de difusión y Δx es el grosor de la membrana celular. El coeficiente de difusión (D) es una medida de la velocidad de entrada al citoplasma dependiendo del peso molecular o el tamaño de una molécula. K es una medida de la solubilidad de la sustancia en lípidos. Un valor bajo de K describe una molécula como el agua que no es soluble en lípidos. Gráficamente, se espera que la permeabilidad (P) en función del coeficiente de partición (K) aumente linealmente cuando D y Δx son constantes. (Walter y Gutknecht, 1986, "Permeability of small nonelectrolytes through lipid bilayer membranes", Journal of Membrane Biology 90:207-217; Diamond y Katz, 1974, "Interpretation of nonelectrolyte partition coefficients between dimyristoyl lecithin and water", Journal of Membrane Biology 17:121-154).

En una modalidad específica, el agente citotóxico y/o citostático es un agente antimetabólico permeable en las células.

50 Los agentes citotóxicos y/o citostáticos permeables en las células incluyen una auristatina permeable en las células, como, por ejemplo, dolastatina-10 o MMAE.

También se describen agentes citotóxicos y/o citostáticos que son agentes de entrecruzamiento de ADN de unión a surco menor permeables en las células, tales como, por ejemplo, un dímero de pirrolobenzodiazepina ("PBD").

55 7.4.2. Conectores

En los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción, los agentes citotóxicos y/o citostáticos están unidos a la porción de unión al antígeno por medio de conectores. Los conectores pueden ser cortos, largos, hidrófobos, hidrófilos, flexibles o rígidos, o pueden estar compuestos de segmentos que cada uno tiene independientemente una o más de las propiedades mencionadas anteriormente, de modo que el conector puede incluir segmentos que tienen propiedades diferentes. Los conectores pueden ser polivalentes de modo que unan covalentemente más de un agente a un único sitio en el anticuerpo, o monovalentes de manera que unan covalentemente un agente único a un único sitio en el anticuerpo.

65

Como apreciarán los expertos en la técnica, los conectores unen los agentes citotóxicos y/o citostáticos a la porción de unión al antígeno formando un enlace covalente con el agente citotóxico y/o citostático en una ubicación y un enlace covalente con la porción de unión al antígeno en otra. Los enlaces covalentes se forman por reacción entre grupos funcionales en el conector y grupos funcionales en los agentes y la porción de unión al antígeno. Como se usa en la presente descripción, la expresión "conector" pretende incluir (i) formas no conjugadas del conector que incluyen un grupo funcional capaz de unir covalentemente el conector a un agente citotóxico y/o citostático y un grupo funcional capaz de unir covalentemente el conector a la porción de unión al antígeno tal como un anticuerpo; (ii) formas parcialmente conjugadas del conector que incluye un grupo funcional capaz de unir covalentemente el conector a una porción de unión al antígeno tal como un anticuerpo y que está unido covalentemente a un agente citotóxico y/o citostático, o *viceversa*; y (iii) formas completamente conjugadas del conector que está unido covalentemente a un agente citotóxico y/o citostático y a una porción de unión al antígeno tal como un anticuerpo. En algunas modalidades específicas de conectores y ADC descritos en la presente descripción, así como los sintonones utilizados para conjugar agentes conectores con anticuerpos, las porciones que comprenden los grupos funcionales en el conector y los enlaces covalentes formados entre el conector y el anticuerpo se ilustran específicamente como R^x y XY, respectivamente.

Los conectores son preferentemente, pero no necesariamente, químicamente estables a las condiciones fuera de la célula, y pueden diseñarse para escindirse, eliminarse y/o degradarse específicamente dentro de la célula. Alternativamente, pueden usarse conectores que no están diseñados para escindirse o degradarse específicamente dentro de la célula. Los conectores particulares también pueden procesarse extracelularmente en el microambiente tumoral por enzimas presentes a niveles altos en el estroma tumoral. La elección del conector estable con respecto al inestable puede depender de la toxicidad del agente citotóxico y/o citostático. En la técnica se conoce una amplia variedad de conectores útiles para unir fármacos a anticuerpos en el contexto de ADC. Cualquiera de estos conectores, así como otros conectores, puede usarse para unir los agentes citotóxicos y/o citostáticos al anticuerpo de los ADC descritos en la presente descripción.

Los conectores polivalentes ilustrativos que pueden usarse para unir muchos agentes citotóxicos y/o citostáticos a una molécula de anticuerpo única se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2009/073445; WO 2010/068795; WO 2010/138719; WO 2011/120053; WO 2011/171020; WO 2013/096901; WO 2014/008375; WO 2014/093379; WO 2014/093394; WO 2014/093640. Por ejemplo, la tecnología de enlace Fleximer desarrollada por Mersana y otros tiene el potencial de habilitar ADC de alta DAR con buenas propiedades fisicoquímicas. Como se muestra a continuación, la tecnología Mersana se basa en la incorporación de moléculas de fármacos en un esqueleto de poliactal solubilizante a través de una secuencia de enlaces éster. La metodología proporciona ADC altamente cargados (DAR hasta 20) mientras mantienen buenas propiedades fisicoquímicas.

Se pueden encontrar ejemplos adicionales de conectores de tipo dendrítico en los documentos US2006/116422; US2005/271615; de Groot y otros (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4490-4494; Amir y otros (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4494-4499; Shamis y otros (2004) *J. Am. Chem. Soc.* 126: 1726-1731; Sun y otros (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12:2213-2215; Sun y otros (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1761-1768; King y otros (2002) *Tetrahedron Letters* 43:1987-1990.

Ejemplos de conectores monovalentes que pueden usarse se describen, por ejemplo, en Nolting, 2013, *Antibody-Drug Conjugates, Methods in Molecular Biology* 1045:71-100; Kitson y otros, 2013, *CRO/CMO - Chemica Oggi - Chemistry Today* 31(4):30-38; Ducry y otros, 2010, *Bioconjugate Chem.* 21:5-13; Zhao y otros, 2011, *J. Med. Chem* 54: 3606-3623; Patente de Estados Unidos núm. 7,223,837; Patente de Estados Unidos núm. 8,568,728; Patente de Estados Unidos núm. 8,535,678; y documento WO2004010957.

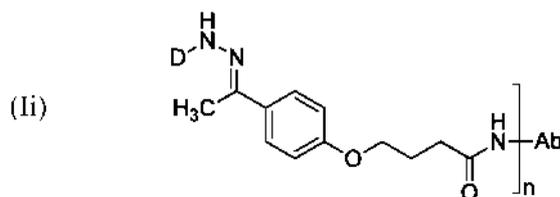
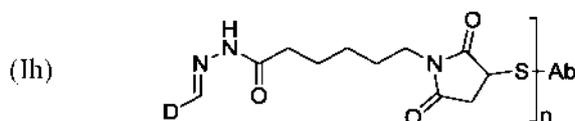
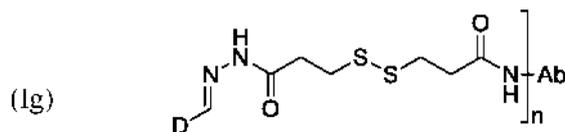
A modo de ejemplo y sin limitación, a continuación, se describen algunos conectores escindibles y no escindibles que pueden incluirse en los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción.

7.4.2.1. Conectores escindibles

En ciertas modalidades, el conector seleccionado es escindible *in vivo*. Los conectores escindibles pueden incluir enlaces química o enzimáticamente inestables o degradables. Los conectores escindibles generalmente dependen de procesos dentro de la célula para liberar el fármaco, como la reducción en el citoplasma, la exposición a condiciones ácidas en el lisosoma o la escisión por proteasas específicas u otras enzimas dentro de la célula. Los conectores escindibles generalmente incorporan uno o más enlaces químicos que pueden escindirse química o enzimáticamente mientras que la porción del conector no es escindible. En ciertas modalidades, un conector comprende un grupo químicamente lábil tal como grupos hidrazona y/o disulfuro. Los conectores que comprenden grupos químicamente lábiles explotan las propiedades diferenciales entre el plasma y algunos compartimentos citoplasmáticos. Las condiciones intracelulares para facilitar la liberación del fármaco para los conectores que contienen hidrazona son el entorno ácido de los endosomas y los lisosomas, mientras que los enlaces que contienen disulfuro se reducen en el citosol, que contiene altas concentraciones de tiol, por ejemplo, glutatión. En ciertas modalidades, la estabilidad plasmática de un conector que comprende un grupo químicamente lábil puede aumentarse mediante la introducción de un impedimento estérico usando sustituyentes cerca del grupo químicamente lábil.

Los grupos lábiles al ácido, como la hidrazona, permanecen intactos durante la circulación sistémica en el ambiente de pH neutro de la sangre (pH 7,3-7,5) y se someten a hidrólisis y liberan el fármaco una vez que el ADC se internaliza en los compartimientos de la célula levemente ácidos, endosoma (pH 5,0-6,5) y lisosoma (pH 4,5-5,0). Este mecanismo de liberación dependiente del pH se asocia con la liberación inespecífica del fármaco. Para aumentar la estabilidad del grupo hidrazona del conector, el conector puede variarse mediante modificación química, por ejemplo, sustitución, permitiendo el ajuste para lograr una liberación más eficiente en el lisosoma con una pérdida de circulación minimizada.

Los conectores que contienen hidrazona pueden contener sitios de escisión adicionales, tales como sitios de escisión lábiles a ácidos adicionales y/o sitios de escisión lábiles enzimáticamente. Los ADC que incluyen conectores ilustrativos que contienen hidrazona incluyen las siguientes estructuras:

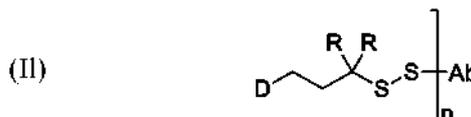
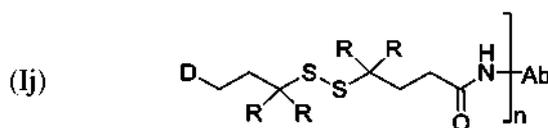


en donde D y Ab representan el agente citotóxico y/o citostático (fármaco) y el anticuerpo, respectivamente, y n representa el número de conectores de fármacos unidos al anticuerpo. En ciertos conectores como el conector (Ig), el conector comprende dos grupos escindibles: un disulfuro y una porción hidrazona. Para dichos conectores, la liberación efectiva del fármaco libre no modificado requiere un pH ácido o una reducción de disulfuro y un pH ácido. Se demostró que los conectores como (Ih) y (Ii) son efectivos con un solo sitio de escisión de hidrazona.

Otros grupos lábiles a los ácidos que pueden incluirse en los conectores incluyen conectores que contienen cis-aconitilo. La química de cis-aconitilo utiliza un ácido carboxílico yuxtapuesto a un enlace amida para acelerar la hidrólisis de la amida en condiciones ácidas.

Los conectores escindibles también pueden incluir un grupo disulfuro. Los disulfuros son termodinámicamente estables a pH fisiológico y se diseñan para liberar el fármaco después de la internalización en las células, en donde el citosol proporciona un entorno significativamente más reductor en comparación con el entorno extracelular. La escisión de enlaces disulfuro generalmente requiere la presencia de un cofactor tiol citoplasmático, como el glutatión (reducido) (GSH), de modo que los conectores que contienen disulfuro sean razonablemente estables en la circulación, liberando selectivamente el fármaco en el citosol. La proteína enzimática intracelular disulfuro isomerasa, o enzimas similares capaces de escindir enlaces disulfuro, también pueden contribuir a la ruptura preferencial de enlaces disulfuro dentro de las células. Se informó que GSH está presente en las células en el rango de concentración de 0,5-10 mm en comparación con una concentración significativamente menor de GSH o la cisteína, el tiol de bajo peso molecular más abundante, en la circulación a aproximadamente 5 μ M. Las células tumorales, en donde el flujo sanguíneo irregular conduce a un estado hipóxico, dan como resultado una mayor actividad de las enzimas reductoras y, por lo tanto, concentraciones aún más altas de glutatión. En ciertos aspectos, la estabilidad *in vivo* de un conector que contiene disulfuro puede mejorarse mediante modificación química del conector, por ejemplo, el uso de un impedimento estérico adyacente al enlace disulfuro.

Los ADC que incluyen conectores ilustrativos que contienen disulfuro incluyen las siguientes estructuras:



5
10
15
20 en donde D y Ab representan el fármaco y el anticuerpo, respectivamente, n representa el número de conectores de fármacos unidos al anticuerpo, y R se selecciona independientemente en cada aparición de hidrógeno o alquilo, por ejemplo. En ciertos aspectos, el aumento del impedimento estérico adyacente al enlace disulfuro aumenta la estabilidad del conector. Las estructuras tales como (Ij) y (II) muestran una mayor estabilidad *in vivo* cuando uno o más grupos R se seleccionan de un alquilo inferior tal como metilo.

25 Otro tipo de conector escindible que puede usarse es un conector que es escindido específicamente por una enzima. Tales conectores se basan típicamente en péptidos o incluyen regiones peptídicas que actúan como sustratos para enzimas. Los conectores que se basan en péptidos tienden a ser más estables en el plasma y el medio extracelular que los conectores químicamente lábiles. Los enlaces peptídicos generalmente tienen una buena estabilidad sérica, ya que las enzimas proteolíticas lisosómicas tienen una actividad muy baja en la sangre debido a los inhibidores endógenos y al valor de pH sanguíneo desfavorablemente alto en comparación con los lisosomas. La liberación de un fármaco de un anticuerpo ocurre específicamente debido a la acción de las proteasas lisosómicas, por ejemplo, catepsina y plasmina. Estas proteasas pueden estar presentes a niveles elevados en ciertas células tumorales.

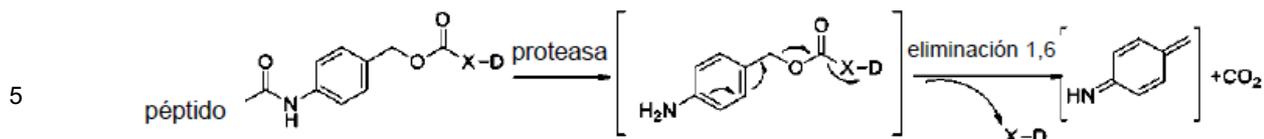
35 Por ejemplo, el péptido escindible se selecciona de tetrapéptidos como Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: 80), Ala-Leu-Ala-Leu (SEQ ID NO: 81) o dipéptidos como Val-Cit, Val-Ala, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Val-(D)Asp, Phe-Lys, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Met-Lys, Asn-Lys, Ile-Pro, Me3Lys-Pro, PhenylGly-(D)Lys, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Pro-(D)Lys, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys. En ciertas modalidades, se prefieren los dipéptidos sobre los polipéptidos más largos debido a la hidrofobicidad de los péptidos más largos.

40 Se describieron una variedad de conectores escindibles basados en dipéptidos útiles para unir fármacos como doxorubicina, mitomicina, campototecina, talisomicina y miembros de la familia de auristatina/auristatina a anticuerpos (véase, Dubowchik y otros, 1998, J. Org. Chem 67:1866-1872; Dubowchik y otros, 1998, Bioorg. Med. Chem. Lett. 8(21):3341-3346; Walker y otros, 2002, Bioorg. Med. Chem. Lett. 12:217-219; Walker y otros, 2004, Bioorg. Med. Chem. Lett. 14:4323-4327; y Francisco y otros, 2003, Blood 102:1458-1465, Dornina y otros, 2008, Bioconjugate Chemistry 19:1960-1963). Todos estos conectores dipéptidos, o versiones modificadas de estos conectores dipéptidos, pueden usarse en los ADC descritos en la presente descripción. Otros conectores dipéptidos que pueden usarse incluyen los que se encuentran en ADC como Brentuximab Vendotin SGN-35 de Seattle Genetics (Adcetris™), Seattle Genetics SGN-75 (anti-CD-70, Val-Cit-MMAF), Celldex Therapeutics glembatumumab (CDX-011) (anti-GPNMB, Val-Cit-MMAE) y Citogen PSMA-ADC (PSMA-ADC-1301) (anti-PSMA, Val-Cit-MMAE).

55 Los conectores escindibles enzimáticamente pueden incluir un espaciador autocatalítico para separar espacialmente el fármaco del sitio de escisión enzimática. La unión directa de un fármaco a un conector peptídico puede dar como resultado la liberación proteolítica de un aducto de aminoácidos del fármaco, lo que perjudica su actividad. El uso de un espaciador autocatalítico permite la eliminación del fármaco químicamente no modificado, completamente activo en la hidrólisis del enlace amida.

60 Un espaciador autocatalítico es el grupo alcohol del *para*-aminobencilo bifuncional, que está unido al péptido a través del grupo amino, formando un enlace amida, mientras que los fármacos que contienen amina pueden estar unidos con el grupo hidroxilo bencílico del conector (PABC) a través de grupos funcionales carbamato. Los profármacos resultantes se activan tras la escisión mediada por proteasas, lo que conduce a una reacción de eliminación 1,6 que libera el fármaco no modificado, dióxido de carbono y el resto del grupo conector. El siguiente esquema muestra la fragmentación del *p*-amidobencil éter y la liberación del fármaco:

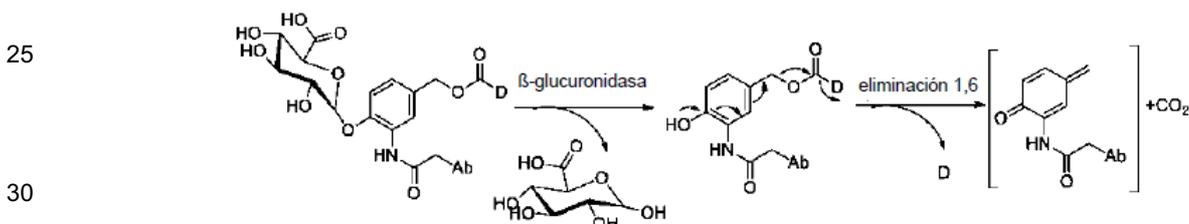
65



en donde XD representa el fármaco no modificado.

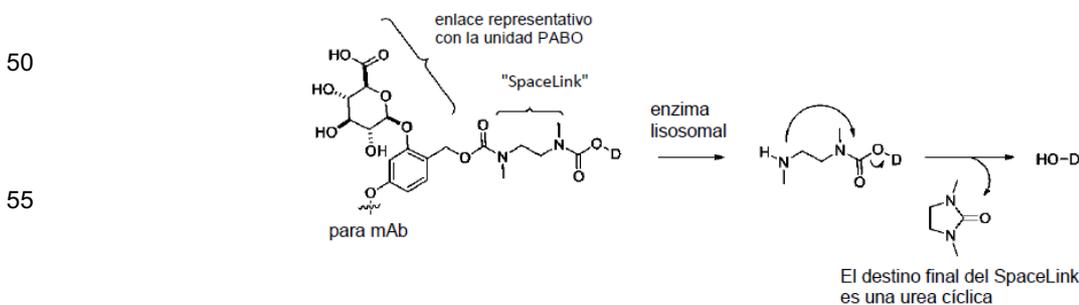
10 También se describieron variantes heterocíclicas de este grupo autocatalítico. Véase, por ejemplo, el documento US 7,989,434.

15 En algunos aspectos, el conector enzimáticamente escindible es un conector basado en ácido β -glucurónico. La liberación fácil del fármaco puede realizarse mediante la escisión del enlace glucosídico β -glucurónico por la enzima lisosómica β -glucuronidasa. Esta enzima está presente abundantemente dentro de los lisosomas y se sobreexpresa en algunos tipos de tumores, mientras que la actividad enzimática fuera de las células es baja. Los conectores basados en ácido β -glucurónico pueden usarse para evitar la tendencia de un ADC a sufrir agregación debido a la naturaleza hidrofílica de los β -glucurónidos. En algunas modalidades, los conectores basados en ácido β -glucurónico se prefieren como conectores para ADC unidos a fármacos hidrófobos. El siguiente esquema muestra la liberación del fármaco del ADC que contiene un conector a base de ácido β -glucurónico:



35 Se describió una variedad de conectores escindibles a base de ácido β -glucurónico útiles para unir fármacos como auristatinas, análogos de camptotecina y doxorubicina, agentes de unión al surco menor de CBI y psimberina a anticuerpos (véase, Nolting, Capítulo 5 "Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates," en: Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology, vol. 1045, página 71-100, Laurent Ducry (Edición), Springer Science & Business Media, LLC, 2013; Jeffrey y otros, 2006 Bioconjug. Chem 17:831-840; Jeffrey y otros, 2007, Bioorg. Med. Chem. Lett. 17:2278-2280; y Jiang y otros, 2005, J. Am. Chem Soc. 127:11254-11255). Todos estos conectores basados en ácido β -glucurónico pueden usarse en los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción.

45 Además, los agentes citotóxicos y/o citostáticos que contienen un grupo fenol pueden unirse covalentemente a un conector a través del oxígeno fenólico. Uno de dichos conectores, descrito en el documento WO 2007/089149, se basa en una metodología en la que se usa un "SpaceLink" de diaminoetano junto con grupos autocatalíticos tradicionales basados en "PABO" para suministrar fenoles. La escisión del conector se representa esquemáticamente a continuación, donde D representa un agente citotóxico y/o citostático que tiene un grupo hidroxilo fenólico.

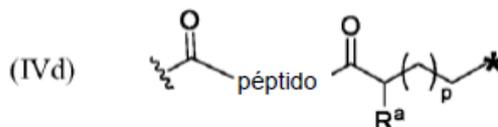
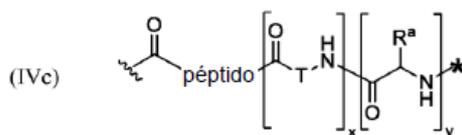
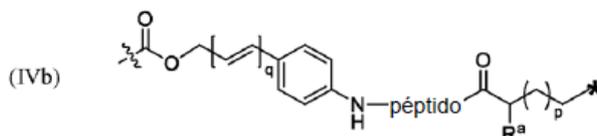
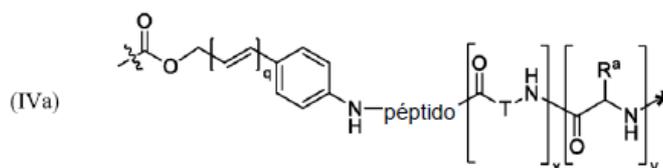


60 Los conectores escindibles pueden incluir porciones o segmentos no escindibles, y/o segmentos o porciones escindibles pueden incluirse en un conector no escindible para hacerlo escindible. Solo a modo de ejemplo, el polietilenglicol (PEG) y los polímeros relacionados pueden incluir grupos escindibles en la cadena principal del polímero. Por ejemplo, un conector de polietilenglicol o polímero puede incluir uno o más grupos escindibles tales como un disulfuro, una hidrazona o un dipéptido.

65

Otros enlaces degradables que pueden emplearse en conectores incluyen, pero sin limitación, enlaces éster formados por la reacción de ácidos carboxílicos de PEG o ácidos carboxílicos de PEG activados con grupos alcohol en un agente biológicamente activo, en donde tales grupos éster generalmente se hidrolizan en condiciones fisiológicas para liberar el agente biológicamente activo. Los enlaces degradables hidrolíticamente incluyen, entre otros, enlaces de carbonato; enlaces imina resultantes de la reacción de una amina y un aldehído; enlaces éster fosfato formados al hacer reaccionar un alcohol con un grupo fosfato; enlaces acetales que son el producto de la reacción de un aldehído y un alcohol; enlaces ortoéster que son el producto de la reacción de un formiato y un alcohol; y enlaces oligonucleotídicos formados por un grupo fosforamidito, que incluye pero no se limita a, el final de un polímero, y un grupo 5'-hidroxilo de un oligonucleótido.

En ciertos aspectos, el conector comprende una porción peptídica escindible enzimáticamente, por ejemplo, un conector que comprende la fórmula estructural (IVa), (IVb), (IVc) o (IVd):



o una sal del mismo, en donde:

peptido representa un péptido (ilustrado C→N y que no muestra los "extremos" carboxilo y amino) escindible por una enzima lisosómica;

T representa un polímero que comprende una o más unidades de etilenglicol o una cadena de alquileo, o combinaciones de las mismas; R^a se selecciona de hidrógeno, alquilo, sulfonato y sulfonato de metilo;

p es un número entero que varía de 0 a 5;

q es 0 o 1;

x es 0 o 1;

y es 0 o 1;

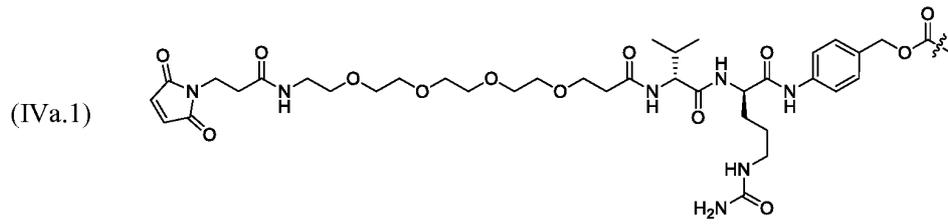
representa el punto de unión del conector a un agente citotóxico y/o citostático; y

* representa el punto de conexión al resto del conector.

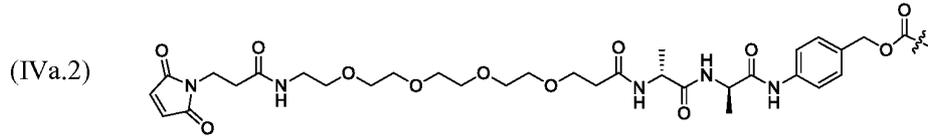
En ciertos aspectos, el péptido se selecciona de un tripéptido o un dipéptido. En aspectos particulares, el dipéptido se selecciona de: Val-Cit; Cit-Val; Ala-Ala; Ala-Cit; Cit-Ala; Asn-Cit; Cit-Asn; Cit-Cit; Val-Glu; Glu-Val; Ser-Cit; Cit-Ser; Lys-Cit; Cit-Lys; Asp-Cit; Cit-Asp; Ala-Val; Val-Ala; Phe-Lys; Val-Lys; Ala-Lys; Phe-Cit; Leu-Cit; Ile-Cit; Phe-Arg; y Trp-Cit.

Los conectores ilustrativos específicos de acuerdo con la fórmula estructural (IVa) que pueden incluirse en los ADC descritos en la presente descripción incluyen los conectores ilustrados a continuación (como se ilustra, los conectores incluyen un grupo adecuado para unir covalentemente el conector a un anticuerpo):

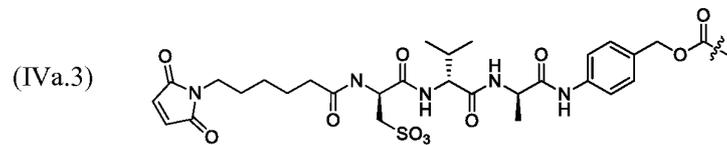
5



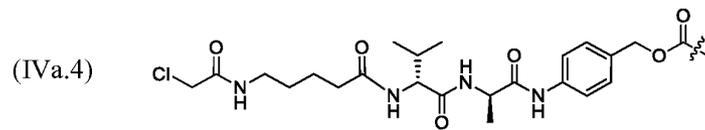
10



15

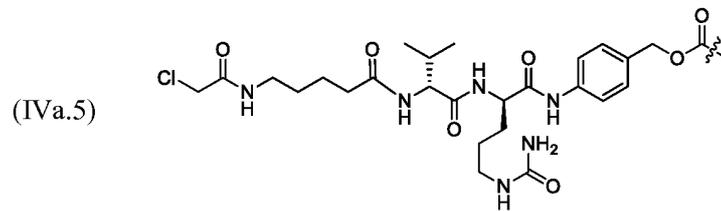


20



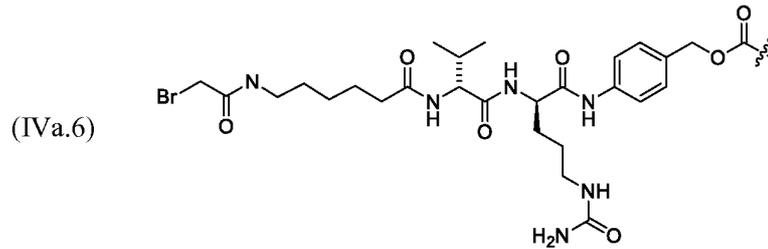
25

30



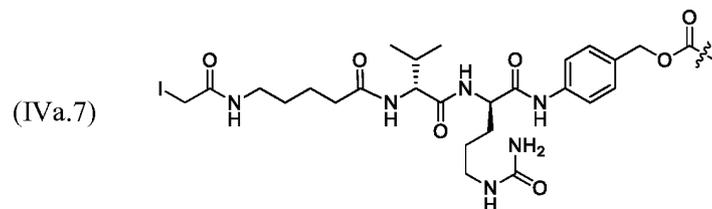
35

40



45

50

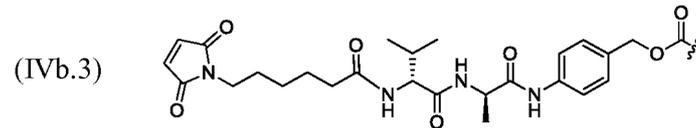
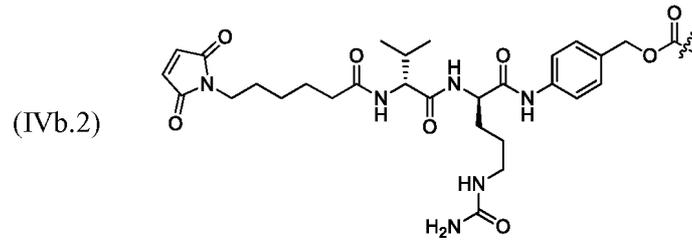
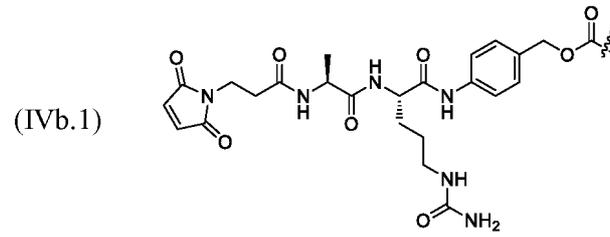


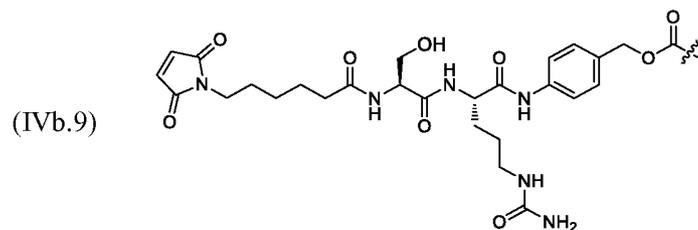
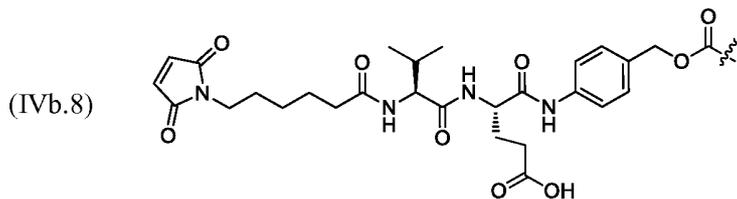
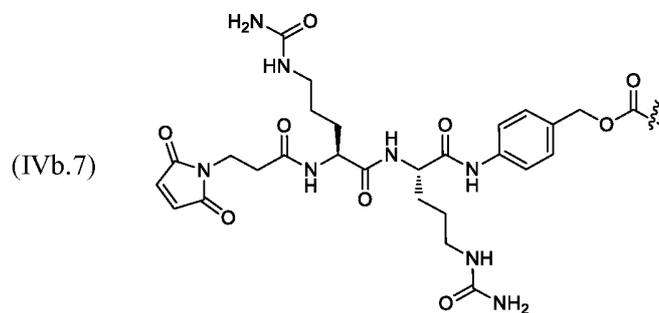
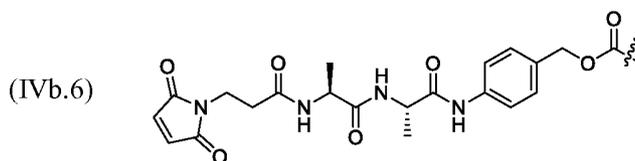
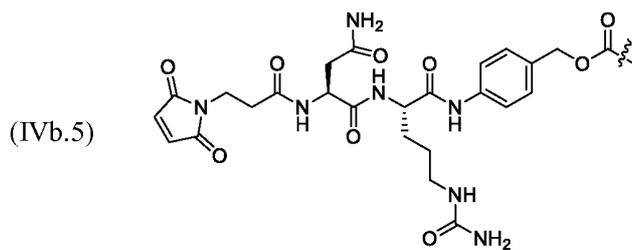
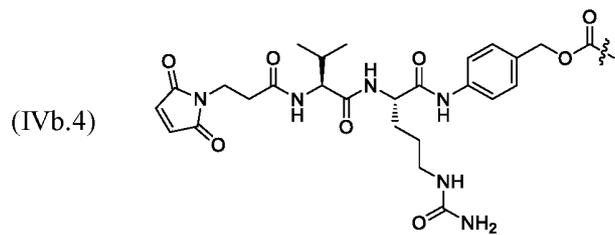
55

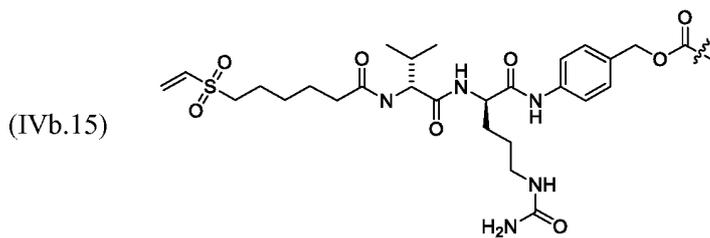
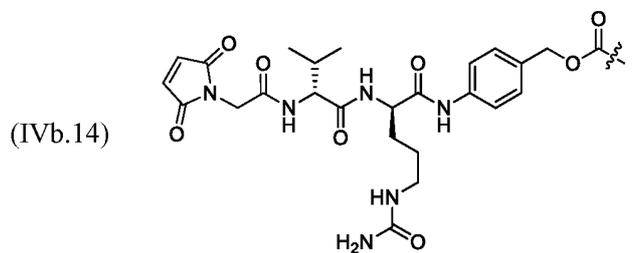
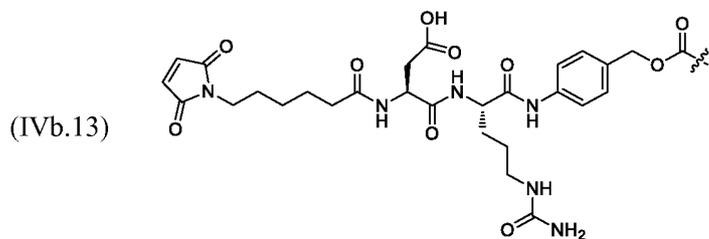
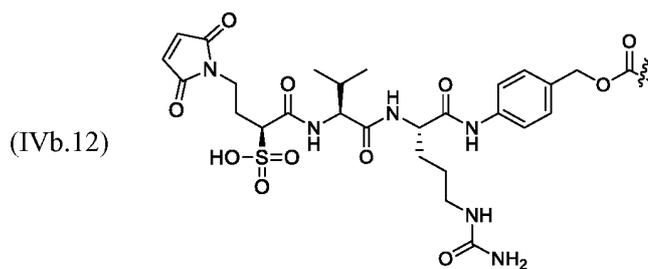
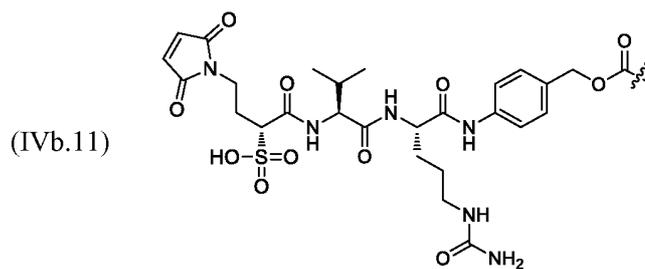
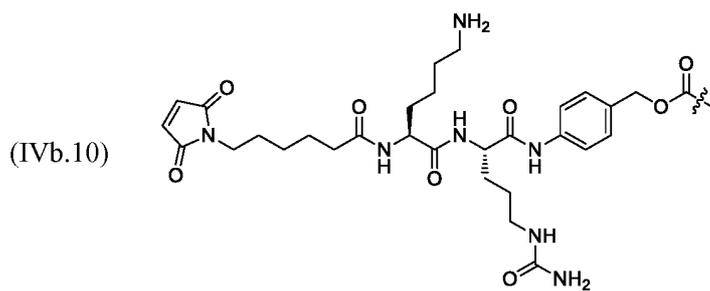
60

Los conectores ilustrativos específicos de acuerdo con la fórmula estructural (IVb) que pueden incluirse en los ADC descritos en la presente descripción incluyen los conectores ilustrados a continuación (como se ilustra, los conectores incluyen un grupo adecuado para unir covalentemente el conector a un anticuerpo):

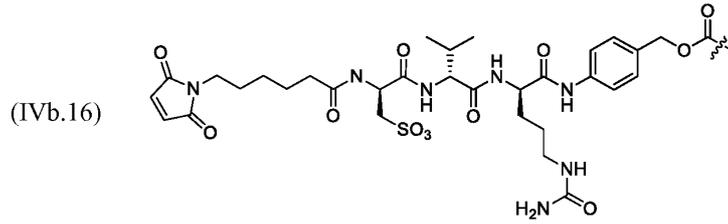
65





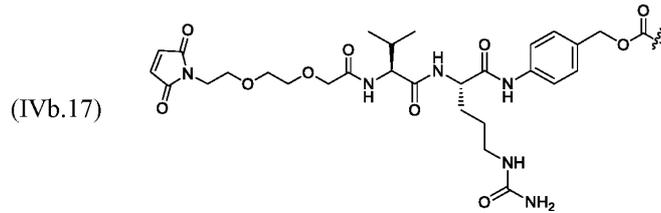


5



10

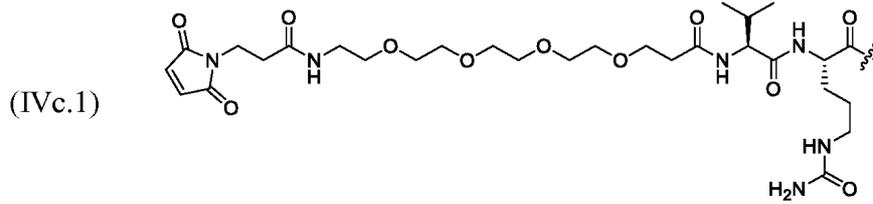
15



20

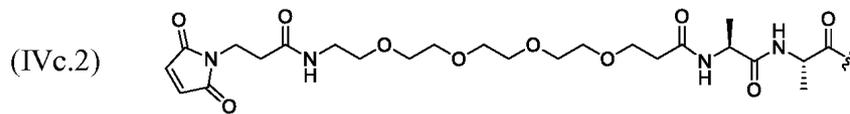
Los conectores ilustrativos específicos de acuerdo con la fórmula estructural (IVc) que pueden incluirse en los ADC descritos en la presente descripción incluyen los conectores ilustrados a continuación (como se ilustra, los conectores incluyen un grupo adecuado para unir covalentemente el conector a un anticuerpo):

25



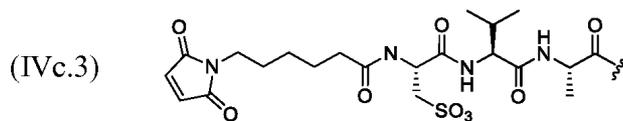
30

35

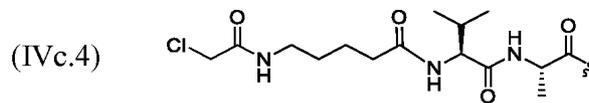


40

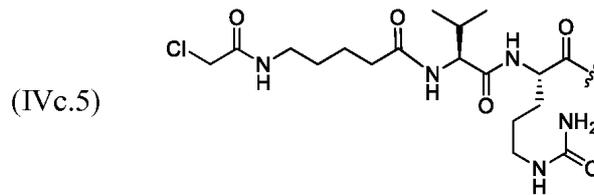
45



50



55

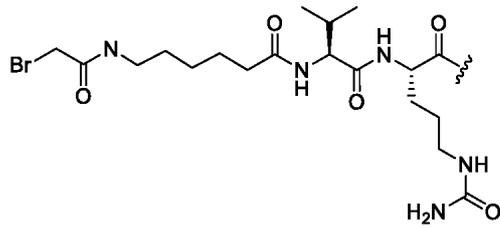


60

65

5

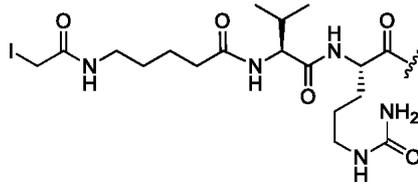
(IVc.6)



10

15

(IVc.7)

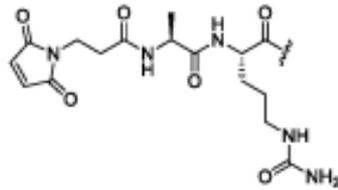


20

Los conectores ilustrativos específicos de acuerdo con la fórmula estructural (IVd) que pueden incluirse en los ADC descritos en la presente descripción incluyen los conectores ilustrados a continuación (como se ilustra, los conectores incluyen un grupo adecuado para unir covalentemente el conector a un anticuerpo):

25

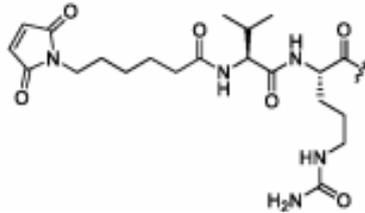
(IVd.1)



30

35

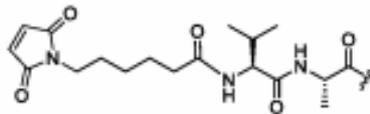
(IVd.2)



40

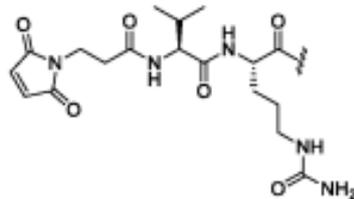
45

(IVd.3)



50

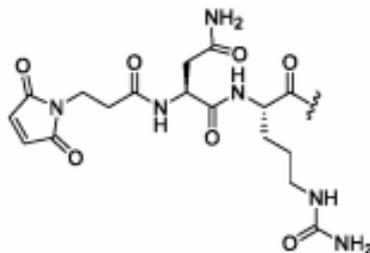
(IVd.4)



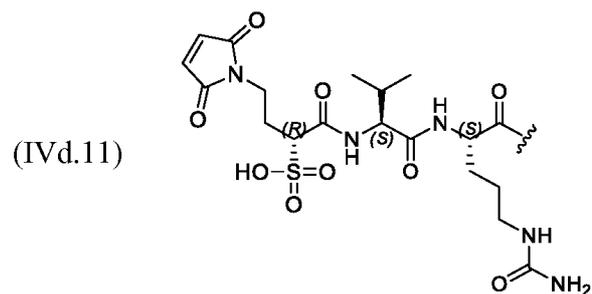
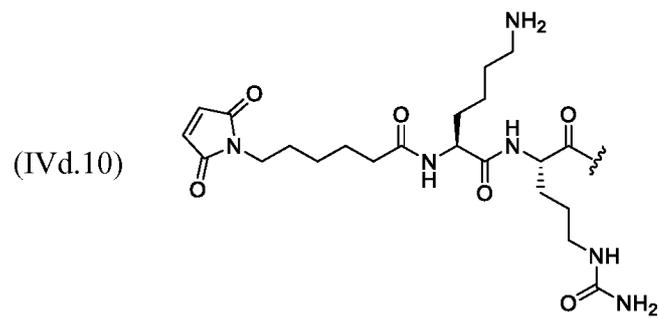
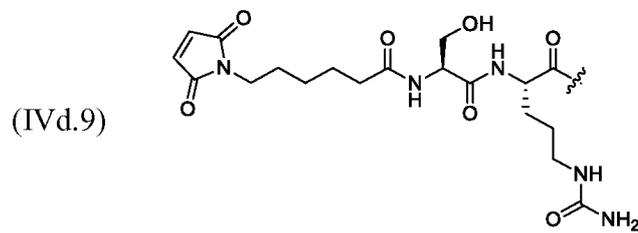
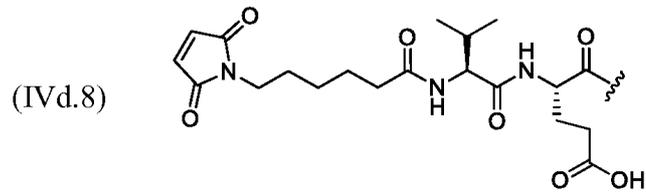
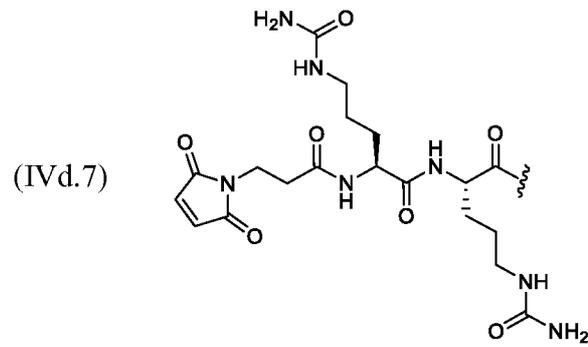
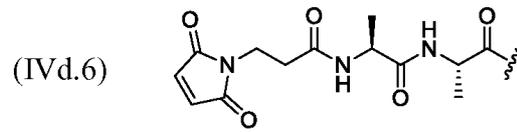
55

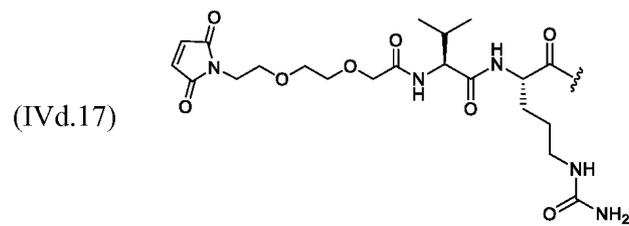
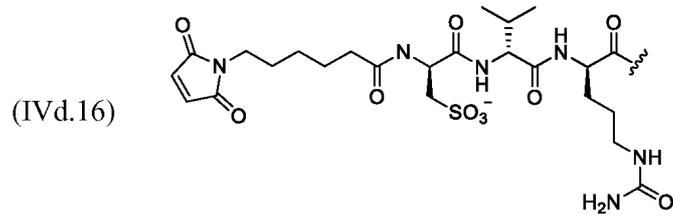
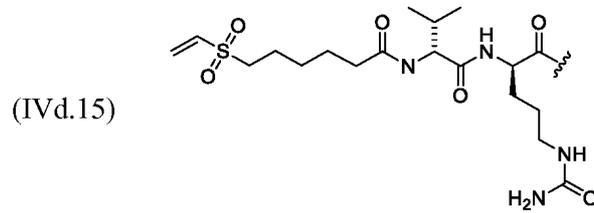
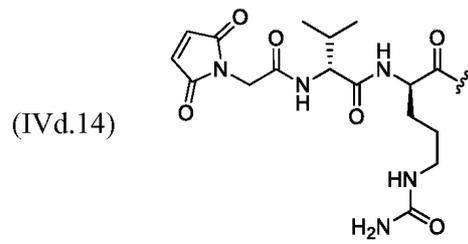
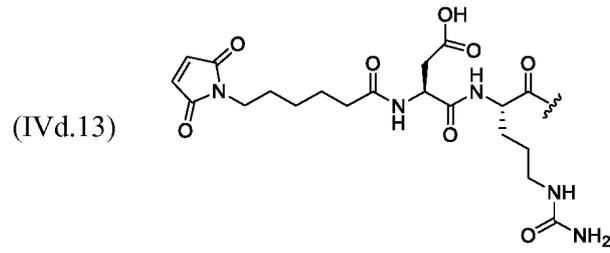
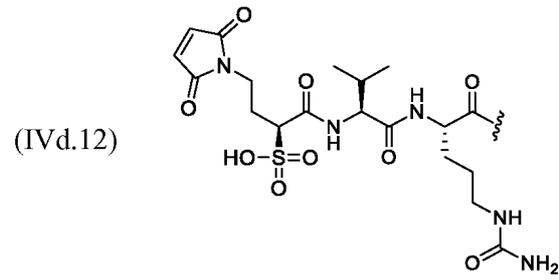
60

(IVd.5)



65





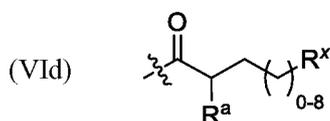
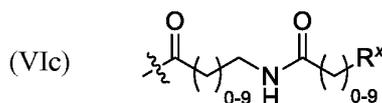
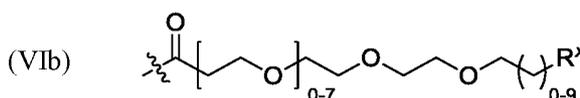
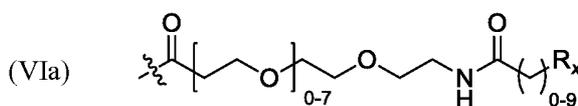
En ciertos aspectos, el conector que comprende la fórmula estructural (IVa), (IVb), (IVc) o (IVd) además comprende una porción carbonato escindible por exposición a un medio ácido. En aspectos particulares, el conector está unido a través de un oxígeno a un agente citotóxico y/o citostático.

5 7.4.2.2. Conectores no escindibles

Aunque los conectores escindibles pueden proporcionar ciertas ventajas, los conectores del ADC descritos en la presente descripción no necesitan ser escindibles. Para los conectores no escindibles, la liberación del fármaco no depende de las propiedades diferenciales entre el plasma y algunos compartimentos citoplasmáticos. Se postula que la liberación del fármaco se produce después de la internalización del ADC a través de la endocitosis mediada por antígenos y el suministro en el compartimento lisosómico, donde el anticuerpo se degrada al nivel de aminoácidos a través de la degradación proteolítica intracelular. Este proceso libera un derivado de fármaco, que está formado por el fármaco, el conector y el residuo de aminoácido al que se unió covalentemente el conector. Los metabolitos aminoácidos del fármaco de los conjugados con conectores no escindibles son más hidrófilos y, en general, menos permeables a la membrana, lo que conduce a menos efectos en la vecindad y menos toxicidades inespecíficas en comparación con los conjugados con un conector escindible. En general, los ADC con conectores no escindibles tienen mayor estabilidad en la circulación que los ADC con conectores escindibles. Los conectores no escindibles pueden ser cadenas de alquileo, o pueden ser de naturaleza polimérica, como, por ejemplo, los basados en polímeros de polialquilenglicol, polímeros de amida, o pueden incluir segmentos de cadenas de alquileo, polialquilenglicoles y/o polímeros de amida.

Se describió una variedad de conectores no escindibles utilizados para unir fármacos con anticuerpos. Véase, Jeffrey y otros, 2006, *Bioconjug. Chem* 17;831-840; Jeffrey y otros, 2007, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:2278-2280; y Jiang y otros, 2005, *J. Am. Chem. Soc.* 127: 11254-11255. Todos estos conectores pueden incluirse en los ADC descritos en la presente descripción.

En ciertos aspectos, el conector no es escindible *in vivo*, por ejemplo, un conector de acuerdo con la fórmula estructural (VIa), (VIb), (VIc) o (VIId) (como se ilustra, los conectores incluyen un grupo adecuado para unir covalentemente el conector a un anticuerpo):



55 o sales de los mismos, en donde:

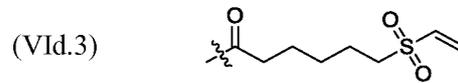
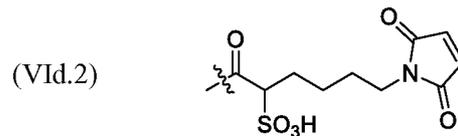
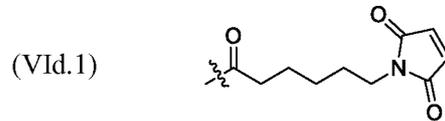
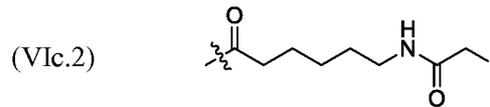
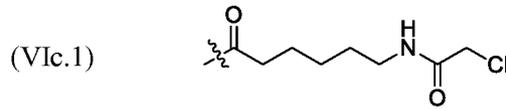
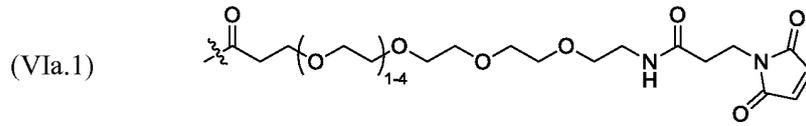
R^a se selecciona de hidrógeno, alquilo, sulfonato y sulfonato de metilo;

R^x es una porción que incluye un grupo funcional capaz de unir covalentemente el conector a un anticuerpo; y

ζ representa el punto de unión del conector a un agente citotóxico y/o citostático.

Los conectores ilustrativos de acuerdo con la fórmula estructural (VIa)-(VIId) que pueden incluirse en los ADC descritos en la presente descripción incluyen los conectores ilustrados a continuación (como se ilustra, los conectores incluyen un grupo adecuado para unir covalentemente el conector a un anticuerpo y " ζ " representa el punto de unión a un agente citotóxico y/o citostático):

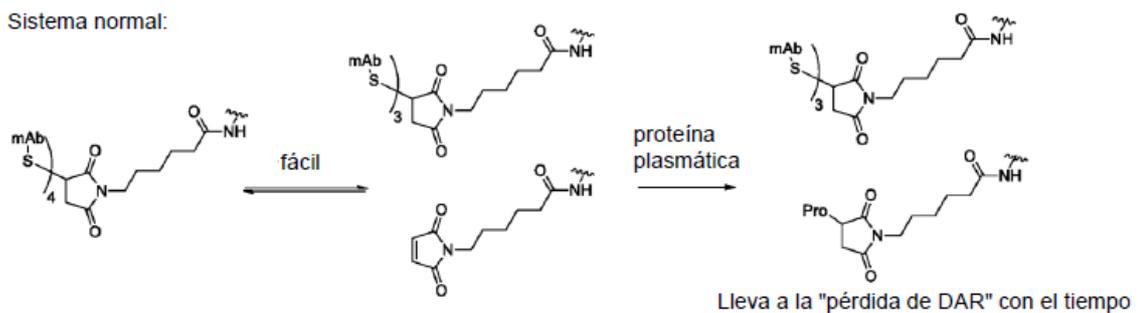
65



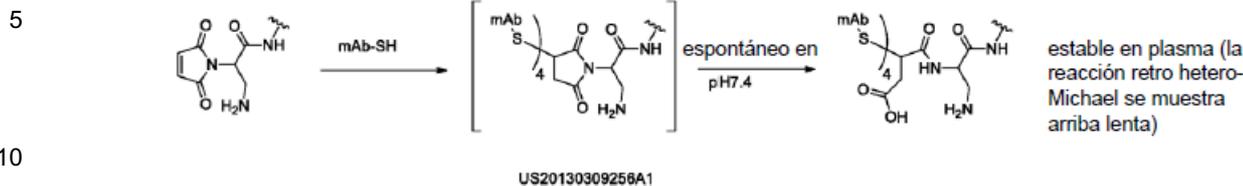
7.4.2.3. Grupos utilizados para unir conectores a anticuerpos

Se puede usar una variedad de grupos para unir los conectores de fármaco a los anticuerpos para producir ADC. Los grupos de unión pueden ser de naturaleza electrófila e incluyen: grupos maleimida, disulfuros activados, ésteres activos como ésteres de NHS y ésteres de HOBt, haloformiatos, haluros de ácido, haluros de alquilo y bencilo como haloacetamidas. Como se discute a continuación, también hay tecnologías emergentes relacionadas con las maleimidias "autoestabilizantes" y "puentes disulfuro" que pueden usarse de acuerdo con la descripción. El grupo específico utilizado dependerá, en parte, del sitio de unión al anticuerpo.

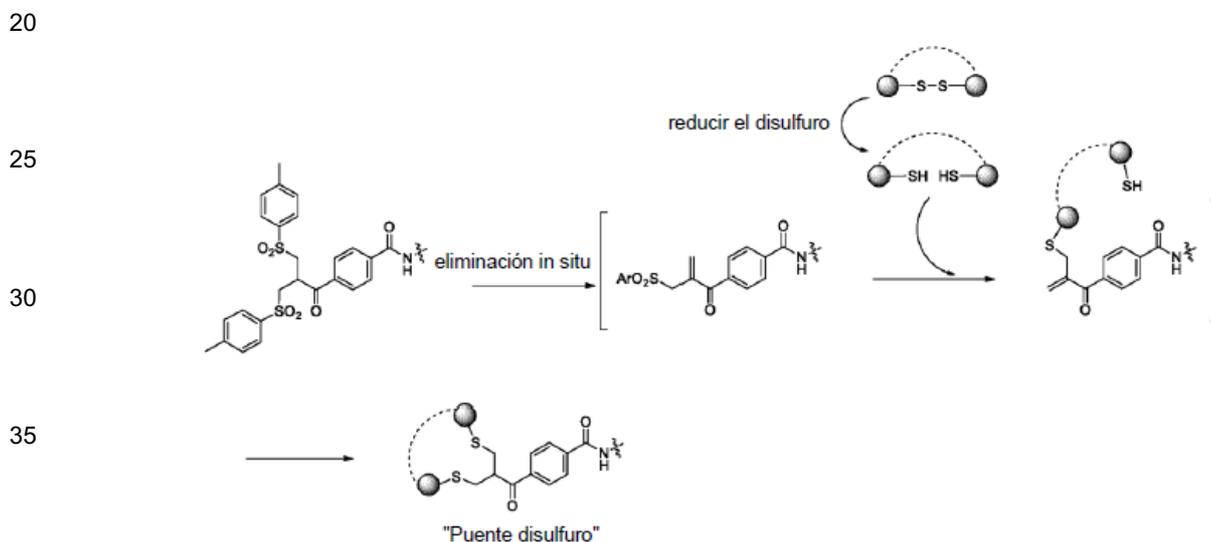
En el siguiente esquema se muestra un ejemplo de un grupo maleimida "autoestabilizante" que se hidroliza espontáneamente en condiciones de conjugación con anticuerpos para dar una especie de ADC con estabilidad mejorada. Véase el documento US20130309256 A1; también Lyon y otros, Nature Biotech publicado en línea, doi:10.1038/nbt.2968).



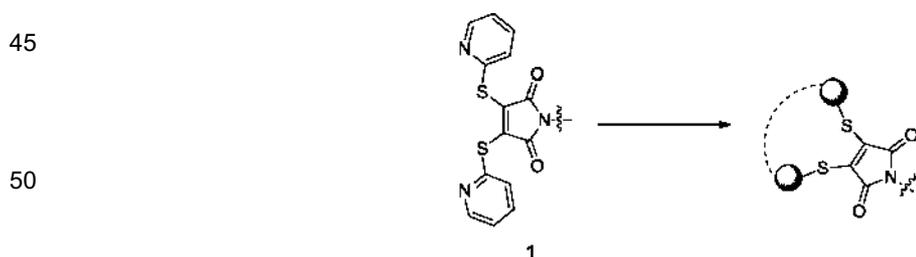
Sistema SGN MalDPR (maleimido dipropilamino):



15 Polytherics revela un método para unir un par de grupos sulfhidrilo derivados de la reducción de un enlace disulfuro nativo de la región bisagra. Véase, Badescu y otros, 2014, Bioconjugate Chem. 25:1124-1136. La reacción se representa en el siguiente esquema. Una ventaja de esta metodología es la capacidad de sintetizar ADC DAR4 homogéneos mediante la reducción completa de las IgG (para dar 4 pares de sulfhidrilos) seguido de la reacción con 4 equivalentes del agente alquilante. También se afirma que los ADC que contienen "puentes disulfuro" tienen una mayor estabilidad.



40 De manera similar, como se representa a continuación, se desarrolló un derivado de maleimida (1, a continuación) que es capaz de unir un par de grupos sulfhidrilo. Véase el documento WO2013/085925.



55 7.4.2.4. Consideraciones de selección del conector

60 Como saben los expertos en la técnica, el conector seleccionado para un ADC particular puede estar influenciado por una variedad de factores, que incluyen, entre otros, el sitio de unión al anticuerpo (por ejemplo, Lys, Cys u otros residuos de aminoácidos), limitaciones estructurales del farmacóforo del fármaco y la lipofilicidad del fármaco. El conector específico seleccionado para un ADC debe buscar equilibrar estos factores diferentes para la combinación específica de anticuerpo/fármaco. Para una revisión de los factores influenciados por la elección de los conectores en los ADC, véase Nolting, Capítulo 5 "Linker Technology in Antibody-Drug Conjugates", en: Antibody-Drug Conjugates: Methods in Molecular Biology, vol. 1045, página 71-100, Laurent Ducry (Edición), Springer Science & Business Media, LLC, 2013.

65

Por ejemplo, como se discutió anteriormente, se observó que los ADC anti-huLRRC15 inducen la muerte de células cancerosas presentes en la vecindad de las células del estroma que expresan huLRRC15 para los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-). El mecanismo de muerte celular por ADC indica que los productos metabólicos formados durante el procesamiento intracelular de los ADC pueden desempeñar un papel. Los metabolitos citotóxicos y/o citostáticos permeables a las células generados por el metabolismo de los ADC en las células que expresan huLRRC15 parecen desempeñar un papel en la muerte celular, mientras que los metabolitos no permeables en las células, que son incapaces de atravesar la membrana celular y difundirse en el medio no puede efectuar la eliminación de células en la vecindad. En ciertas modalidades, el conector se selecciona para efectuar, mejorar o aumentar el efecto de eliminación de células de los ADC anti-huLRRC15.

Las propiedades del conector también pueden afectar la agregación del ADC en condiciones de uso y/o almacenamiento. Típicamente, los ADC informados en la literatura contienen no más de 3-4 moléculas de fármaco por porción de unión al antígeno, por ejemplo, por molécula de anticuerpo (véase, por ejemplo, Chari, 2008, Acc Chem Res 41:98-107). Los intentos de obtener relaciones más altas de fármaco a anticuerpo ("DAR") a menudo fallaban, particularmente si tanto el fármaco como el conector eran hidrófobos, debido a la agregación del ADC (King y otros, 2002, J Med Chem 45:4336-4343; Hollander y otros, 2008, Bioconjugate Chem 19:358-361; Burke y otros, 2009 Bioconjugate Chem 20:1242-1250). En muchos casos, los DAR superiores a 3-4 podrían ser beneficiosos como un medio para aumentar la potencia. En los casos en los que el agente citotóxico y/o citostático es de naturaleza hidrófoba, puede ser conveniente seleccionar conectores que sean relativamente hidrófilos como un medio para reducir la agregación de ADC, especialmente en los casos en que se desea DAR mayor de 3-4. Por lo tanto, en ciertas modalidades, el conector incorpora porciones químicas que reducen la agregación de los ADC durante el almacenamiento y/o uso. Un conector puede incorporar grupos polares o hidrófilos, como grupos cargados o grupos que se cargan bajo pH fisiológico para reducir la agregación de los ADC. Por ejemplo, un conector puede incorporar grupos cargados tales como sales o grupos que desprotonan, por ejemplo, carboxilatos, o que protonan, por ejemplo, aminas, a pH fisiológico.

En el documento WO 2009/073445 se describen ejemplos de conectores polivalentes que se informó que producen DAR de hasta 20 que pueden usarse para unir numerosos agentes citotóxicos y/o citostáticos a un anticuerpo; WO 2010/068795; WO 2010/138719; WO 2011/120053; WO 2011/171020; WO 2013/096901; WO 2014/008375; WO 2014/093379; WO 2014/093394; WO 2014/093640.

En aspectos particulares, la agregación de los ADC durante el almacenamiento o uso es inferior a aproximadamente el 10 % según se determina por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). En aspectos particulares, la agregación de los ADC durante el almacenamiento o uso es inferior al 10 %, tal como inferior al 5 %, inferior al 4 %, inferior al 3 %, inferior al 2 %, inferior al 1 %, menos de aproximadamente 0,5 %, menos de aproximadamente 0,1 %, o incluso menor, según lo determinado por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). En aspectos particulares, la agregación de los ADC durante el almacenamiento o uso está en un rango de cualquiera de los dos valores anteriores, tales como, entre otros, de aproximadamente 0,1 % a 10 %, de 0,1 % a 5 %, de 0,5 % a 10 %, 0,5 % a 5 %, o 1 % a 10 %.

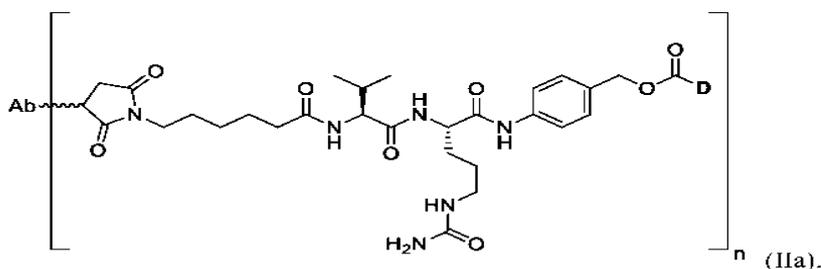
7.4.3. Modalidades de conjugados fármaco-anticuerpo anti-huLRRC15

Como se describió anteriormente, el ADC anti-huLRRC15 de la invención tiene una estructura de acuerdo con la fórmula (I): $[DL-XY]_n-Ab$ (I), o una sal de la misma, en donde **D** es el agente citotóxico y/o citostático; **L** es el conector; **Ab** es el anticuerpo; **XY** representa un enlace covalente que une el conector **L** al anticuerpo **Ab**; y **n** es un número entero que varía de 2 a 8.

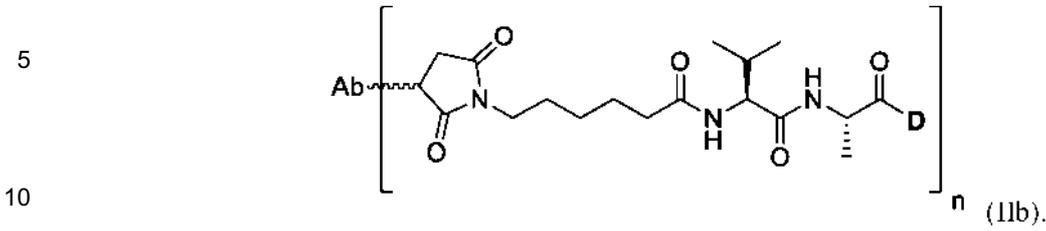
En algunas modalidades, XY es un enlace formado con un grupo amino en el anticuerpo Ab, como una amida o una tiourea, o un enlace formado con un grupo sulfidrido en el anticuerpo Ab, como un tioéter. En algunas de tales modalidades, XY es un tioéter.

Como se describe en la presente descripción, L comprende Val-Cit o Val-Ala.

En el ADC de la invención, el compuesto de acuerdo con la fórmula estructural (I) tiene una estructura de fórmula (IIa):

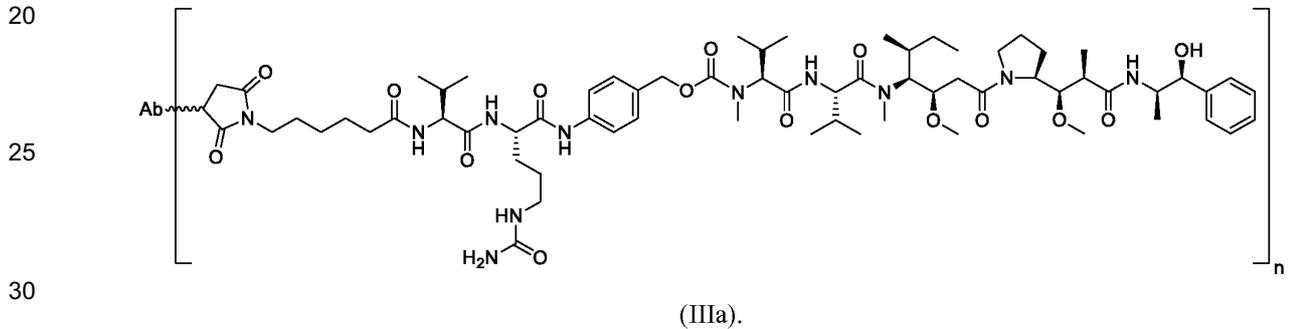


También se describen compuestos de acuerdo con la fórmula estructural (I) que tienen una estructura de fórmula (IIb):

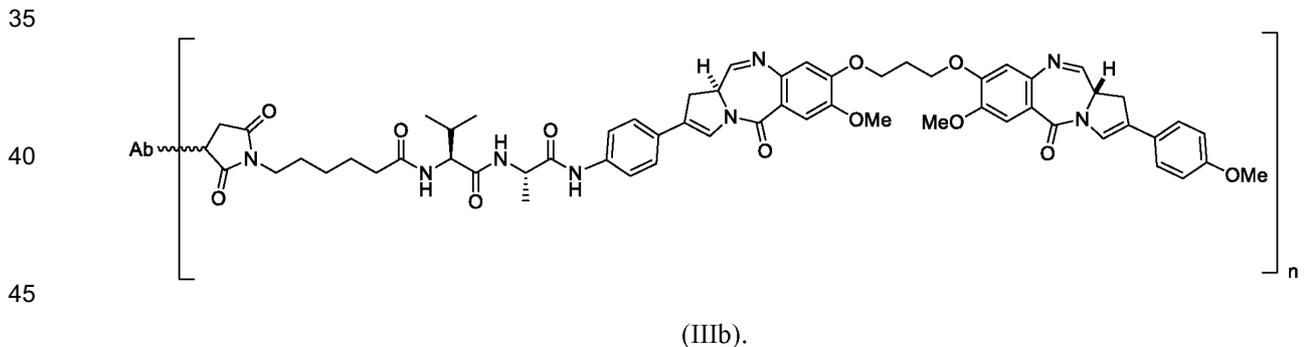


En algunos aspectos del compuesto de fórmula (I), (IIa) o (IIb), D es un agente antimetabólico o un agente intercalante de ADN. En algunas modalidades, D es un agente antimetabólico permeable en las células. En ciertas modalidades de este tipo, el agente antimetabólico permeable en las células es MMAE. En otros aspectos, D es un agente intercalante de ADN que es un dímero de pirrolobenzodiazepina (PBD).

En el ADC de la invención, el compuesto de acuerdo con la fórmula estructural (I) tiene una estructura de fórmula (IIIa):



También se describen compuestos de acuerdo con la fórmula estructural (I) que tienen una estructura de fórmula (IIIb):



En algunos aspectos de la descripción del compuesto de la fórmula (I), (IIa), (IIb), (IIIa) o (IIIb), Ab es un anticuerpo que comprende tres V_H CDR correspondientes en secuencia, respectivamente, a la SEQ ID NO: 10, a la SEQ ID NO: 11 y a la SEQ ID NO: 12 y tres V_L CDR correspondientes en secuencia, respectivamente, a la SEQ ID NO: 13, a la SEQ ID NO: 14 y a la SEQ ID NO: 15. En algunas de tales modalidades, Ab es un anticuerpo con una V_H que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16, y una V_L que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. En otros aspectos, Ab es un anticuerpo que comprende tres V_H CDR correspondientes en secuencia, respectivamente, a la SEQ ID NO: 20, a la SEQ ID NO: 21 y a la SEQ ID NO: 22 y tres V_L CDR correspondientes en secuencia, respectivamente, a la SEQ ID NO: 23, a la SEQ ID NO: 24 y a la SEQ ID NO: 25. En algunos de estos aspectos, Ab es un anticuerpo con una V_H que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26, y una V_L que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27. En algunos aspectos, Ab es una IgG₁ humana. En algunas de tales modalidades, Ab es un anticuerpo con una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 o 102, y una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19. En otras de tales modalidades, Ab es un anticuerpo con una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100 o 103, y una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19. En otros aspectos, Ab es un anticuerpo con una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o 101, y una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29. En otros aspectos, Ab es un anticuerpo con una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104 o 105, y una cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29. En algunos aspectos, Ab es un anticuerpo

seleccionado entre huM25, huM25-S239C, huAD208.4.1 y huAD208.4.1-S239C. En ciertas modalidades de este tipo, Ab es huM25. En otras de tales modalidades, Ab es huM25-S239C. En otros aspectos más, Ab es huAD208.4.1. En otros aspectos, Ab es huAD208.4.1-S239C.

5 En algunos aspectos del compuesto de fórmula (I), (IIa), (IIb), (IIIa) o (IIIb), n es 2, 3 o 4. En ciertos aspectos, n es 2 o 4.

7.5. Métodos de elaboración de conjugados fármaco-anticuerpo anti-huLRRC15

10 Los ADC descritos en la presente descripción pueden sintetizarse usando productos químicos bien conocidos. Los procesos químicos seleccionados dependerán, entre otras cosas, de la identidad de los agentes citotóxicos y/o citostáticos, el conector y los grupos utilizados para unir el conector al anticuerpo. En general, los ADC de acuerdo con la fórmula (I) pueden prepararse de acuerdo con el siguiente esquema:

15
$$D-L-R^x+Ab-R^y \rightarrow (I)[DL-XY]_n-Ab$$

donde D, L, Ab, XY y n son como se definen anteriormente, y R^x y R^y representan grupos complementarios capaces de formar uniones covalentes uno con el otro, como se discutió anteriormente.

20 Las identidades de los grupos R^x y R^y dependerán de los procesos químicos utilizados para unir el sintonon D-L- R^x al anticuerpo. En general, los procesos químicos utilizados no deberían alterar la integridad del anticuerpo, por ejemplo, su capacidad para unirse a su objetivo. Preferentemente, las propiedades de unión del anticuerpo conjugado se parecerán mucho a las del anticuerpo no conjugado. En la técnica se conoce bien una variedad de procesos químicos y técnicas para conjugar moléculas con moléculas biológicas tales como anticuerpos y, en particular, con anticuerpos.
25 Véase, por ejemplo, Amon y otros, "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy", en: Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld y otros, Edición, Alan R. Liss, Inc., 1985; Hellstrom y otros, "Antibodies For Drug Delivery", en: Controlled Drug Delivery, Robinson y otros, Edición, Marcel Dekker, Inc., 2da edición 1987; Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," en: Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera y otros, Edición., 1985; "Analysis, Results, and Future
30 Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy," en: Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin y otros, Edición, Academic Press, 1985; Thorpe y otros, 1982, Immunol. Ap. 62:119-58; Publicación PCT WO 89/12624. Cualquiera de estos procesos químicos puede usarse para unir los sintonones a un anticuerpo.

35 Se conocen varios grupos funcionales R^x y procesos químicos útiles para unir los sintonones a los residuos de lisina accesibles, e incluyen a modo de ejemplo y sin limitación los ésteres e isotiocianatos de NHS.

Se conocen varios grupos funcionales R^x y procesos químicos útiles para unir los sintonones a grupos sulfhidrilo libres de residuos de cisteína accesibles, e incluyen a modo de ejemplo y sin limitación haloacetilos y maleimidias.

40 Sin embargo, los procesos químicos de conjugación no se limitan a los grupos de cadenas laterales disponibles. Las cadenas laterales como las aminas pueden convertirse en otros grupos útiles, como los hidroxilos, uniendo a la amina una molécula pequeña apropiada. Esta estrategia puede usarse para aumentar el número de sitios de enlace disponibles en el anticuerpo mediante la conjugación de moléculas pequeñas multifuncionales con cadenas laterales
45 de residuos de aminoácidos accesibles del anticuerpo. Los grupos funcionales R^x adecuados para unir covalentemente los sintonones a estos grupos funcionales "convertidos" se incluyen después en los sintonones.

Un anticuerpo también puede diseñarse para incluir residuos de aminoácidos para la conjugación. Axup y otros, 2012, Proc Natl Acad Sci USA 109(40):16101-16106, describen un enfoque para diseñar anticuerpos que incluyan residuos
50 de aminoácidos no codificados genéticamente útiles para conjugar fármacos en el contexto de ADC, tales como los procesos químicos y los grupos funcionales útiles para unir sintonones a los aminoácidos no codificados.

Típicamente, los sintonones están unidos a las cadenas laterales de residuos de aminoácidos del anticuerpo, que incluyen, por ejemplo, el grupo amino primario de residuos de lisina accesibles o el grupo sulfhidrilo de residuos de
55 cisteína accesibles. Se pueden obtener grupos sulfhidrilo libres al reducir los enlaces disulfuro entre las cadenas.

Para los enlaces en los que R^y es un grupo sulfhidrilo (por ejemplo, cuando R^x es una maleimida), el anticuerpo generalmente se reduce primero total o parcialmente para romper los puentes disulfuro entre los residuos de cisteína de las cadenas. Los residuos de cisteína específicos y los puentes disulfuro intercadena que pueden reducirse para
60 la unión de los sintonones conectores de fármacos, incluyendo un grupo adecuado para la conjugación con un grupo sulfhidrilo para anticuerpos ilustrativos huM25, huAD208.4.1, huAD208.12.1, huAD208.14.1, hu139.10, muAD208.9.1, muAD210.40.9, incluyen a manera de ejemplo y no de limitación, los residuos C233, C239, y C242 (sistema de numeración Kabat; correspondiente a los residuos C220, C226, y C229 numeración Eu) en la cadena pesada de la IgG₁ de humano, y residuos C214 (sistema de numeración Kabat) en la cadena ligera kappa de Ig de humano.

65

- Los residuos de cisteína para la unión del sintonon que no participan en puentes disulfuro pueden transformarse en un anticuerpo mediante la mutación de uno o más codones. La reducción de estas cisteínas no apareadas produce un grupo sulfhidrilo adecuado para la conjugación. Las posiciones preferidas para incorporar cisteínas modificadas incluyen, a manera de ejemplo y sin limitación, las posiciones S112C, S113C, A114C, S115C, A176C, S180C, S239C, S252C, V286C, V292C, S357C, A359C, S398C, S428C (numeración de Kabat) de la cadena pesada de IgG₁ de humano y las posiciones V110C, S114C, S121C, S127C, S168C, V205C (numeración de Kabat) de la cadena ligera kappa de Ig de humano (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos núm. 7,521,541, la Patente de Estados Unidos núm. 7,855,275 y la Patente de Estados Unidos núm. 8,455,622).
- La mutación de un residuo de cisteína que se sabe que participa en un puente disulfuro existente también puede diseñarse de tal manera que la cisteína no apareada resultante esté disponible para formar un conector de sulfuro a un fármaco. Los ejemplos de mutaciones de cisteína modificadas genéticamente incluyen, pero no se limitan a, mutaciones C214 de la región constante de la cadena ligera, por ejemplo, C214A.
- Como apreciarán los expertos en la técnica, el número de agentes citotóxicos y/o citostáticos unidos a una molécula de anticuerpo puede variar, de manera que una preparación de ADC puede ser de naturaleza heterogénea, donde algunos anticuerpos en la preparación contienen un agente conector, otros dos, otros tres, etcétera (y otros ninguno). El grado de heterogeneidad dependerá, entre otras cosas, de los procesos químicos utilizados para unir los agentes citotóxicos y/o citostáticos. Por ejemplo, cuando los anticuerpos se reducen para producir grupos sulfhidrilo para la unión, a menudo se producen mezclas heterogéneas de anticuerpos que tienen cero, 2, 4, 6 u 8 agentes unidos por molécula. Además, al limitar la relación molar del compuesto de unión, a menudo se producen anticuerpos que tienen cero, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 agentes unidos por molécula. Por lo tanto, se entenderá que, en dependencia del contexto, las relaciones de fármaco a anticuerpo (DAR) establecidas pueden ser el promedio de una colección de anticuerpos. Por ejemplo, "DAR4" se refiere a una preparación de ADC que no se ha sometido a purificación para aislar picos de DAR específicos y comprende una mezcla heterogénea de moléculas de ADC que tienen diferentes números de agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por anticuerpo (por ejemplo, 0, 2, 4, 6, 8 agentes por anticuerpo), pero tiene una relación promedio de fármaco a anticuerpo de 4. De forma similar, "DAR8" se refiere a una preparación de ADC heterogénea en la cual la relación promedio de fármaco a anticuerpo es 8.
- Las preparaciones heterogéneas de ADC pueden procesarse, por ejemplo, mediante cromatografía de interacción hidrófoba ("HIC") para producir preparaciones enriquecidas en un ADC que tiene un DAR de interés especificado (o una mezcla de dos o más DAR especificados). Tales preparaciones enriquecidas se designan en la presente descripción como "EX", donde "E" indica que la preparación de ADC se procesó y está enriquecida en un ADC que tiene un DAR específico y "X" representa el número de agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC. Las preparaciones enriquecidas en una mezcla de ADC que tienen dos DAR específicos se denominan "EX/EY", tres DAR específicos "EX/EY/EZ", etcétera, donde "E" indica que la preparación de ADC se procesó para enriquecer los DAR especificados y "X", "Y" y "Z" representan los DAR enriquecidos. Como ejemplos específicos, "E2" se refiere a una preparación de ADC enriquecida para contener principalmente ADC que tienen dos agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC. "E4" se refiere a una preparación de ADC enriquecida para contener principalmente ADC que tienen cuatro agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC. "E2/E4" se refiere a una preparación de ADC enriquecida para contener principalmente dos poblaciones de ADC, una que tiene dos agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC y otra que tiene cuatro agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC.
- Una preparación "E" enriquecida también puede referirse a un ADC que se preparó a partir de un anticuerpo diseñado, por ejemplo, mediante la inserción o eliminación de un residuo de cisteína, para formar un enlace con un fármaco en un sitio específico. Por ejemplo, un anticuerpo con una mutación S239C en cada cadena pesada puede tener un fármaco unido principalmente a través de un conector en ese sitio y, por lo tanto, puede permitirse una preparación de ADC E2 que tenga principalmente DAR2 sin procesamiento adicional, como el procesamiento cromatográfico.
- Como se usa en la presente descripción, las preparaciones "E" enriquecidas generalmente serán al menos aproximadamente 80 % puras en los ADC DAR indicados, aunque niveles más altos de pureza, tales como purzas de al menos aproximadamente 85 %, 90 %, 95%, 98 %, 99 % o incluso mayores, pueden obtenerse y ser convenientes. En algunos aspectos, las preparaciones enriquecidas "E" tienen un rango de pureza dentro de cualquiera de los dos valores anteriores, tales como, entre otros, aproximadamente 80-99 %, 80-98 %, 85-95 %, 90-98 %, 95-98 % u 80-90 %. Por ejemplo, una preparación "EX" generalmente será al menos aproximadamente 80 % pura en ADC que tienen X agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC. Para preparaciones enriquecidas de "orden superior", como, por ejemplo, preparaciones "EX/EY", la suma total de ADC que tienen X e Y agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC generalmente comprenderá al menos aproximadamente el 80 % de los ADC totales en la preparación. De manera similar, en una preparación enriquecida "EX/EY/EZ", la suma total de ADC que tienen X, Y y Z agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC comprenderá al menos aproximadamente el 80 % del total de ADC en la preparación.
- La pureza puede evaluarse mediante una variedad de métodos, como se conoce en la técnica. Como ejemplo específico, una preparación de ADC puede analizarse mediante HPLC u otra cromatografía y la pureza puede

evaluarse analizando áreas bajo las curvas de los picos resultantes. Los métodos de cromatografía específicos que pueden emplearse para evaluar la pureza de las preparaciones de ADC se proporcionan en el Ejemplo 8.

La Figura 12 es ilustrativa. El panel superior muestra un cromatograma de una preparación cruda de un ADC preparado de acuerdo con el Ejemplo 8. La preparación contiene anticuerpos que no tienen agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos (DAR0), tienen dos agentes unidos (DAR2), tienen cuatro agentes (DAR4), tienen seis agentes unidos (DAR6) y tienen ocho agentes unidos (DAR8). Esta preparación cruda tiene un promedio DAR de 4. La cromatografía de HIC produce una preparación E2 en la cual aproximadamente el 95 % de los ADC en la preparación tienen dos agentes citostáticos y/o citotóxicos unidos por molécula de ADC (dicho de otra manera, aproximadamente el 95 % de los ADC son DAR2).

En la sección de Ejemplos se proporcionan métodos específicos para obtener mezclas heterogéneas de ADC que comprenden el anticuerpo humanizado huM25 que tiene un DAR promedio de 4, así como también preparaciones altamente purificadas que contienen 2 y 4 agentes unidos. Estos métodos específicos pueden modificarse utilizando habilidades rutinarias para obtener ADC heterogéneos y/u homogéneos que comprenden otros anticuerpos anti-huLRRC15, conectores y/o agentes citotóxicos y/o citostáticos.

7.6. Composiciones

Los ADC descritos en la presente descripción pueden estar en forma de composiciones que comprenden el ADC y uno o más portadores, excipientes y/o diluyentes. Las composiciones pueden formularse para usos específicos, tales como para usos veterinarios o farmacéuticos en humanos. La forma de la composición (por ejemplo, polvo seco, formulación líquida, etcétera) y los excipientes, diluyentes y/o portadores utilizados dependerán de los usos previstos del anticuerpo y/o ADC y, para usos terapéuticos, del modo de administración.

Para usos terapéuticos, las composiciones pueden suministrarse como parte de una composición farmacéutica estéril que incluye un portador farmacéuticamente aceptable. Esta composición puede estar en cualquier forma adecuada (dependiendo del método deseado de administración a un paciente). La composición farmacéutica puede administrarse a un paciente por una variedad de vías tales como oral, transdérmica, subcutánea, intranasal, intravenosa, intramuscular, intratumoral, intratecal, tópica o local. La vía más adecuada para la administración en cualquier caso dependerá del anticuerpo particular y/o ADC, el sujeto, y la naturaleza y gravedad de la enfermedad y la condición física del sujeto. Típicamente, la composición farmacéutica se administrará por vía intravenosa o subcutánea.

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en formas de dosificación unitarias que contienen una cantidad predeterminada por dosis de un anticuerpo y/o ADC descritos en la presente descripción. La cantidad de anticuerpo y/o ADC incluida en una dosis unitaria dependerá de la enfermedad a tratar, así como también de otros factores bien conocidos en la técnica. Dichas dosis unitarias pueden estar en forma de un polvo seco liofilizado que contiene una cantidad de anticuerpo y/o ADC adecuada para una administración única, o en forma de un líquido. Las formas de dosificación unitaria de polvo seco pueden empaquetarse en un estuche con una jeringa, una cantidad adecuada de diluyente y/u otros componentes útiles para la administración. Las dosis unitarias en forma líquida pueden suministrarse convenientemente en forma de una jeringa precargada con una cantidad de anticuerpo y/o ADC adecuada para una única administración.

Las composiciones farmacéuticas también pueden suministrarse en forma masiva que contiene cantidades de ADC adecuadas para múltiples administraciones.

Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse para el almacenamiento como formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas mezclando un anticuerpo y/o ADC que tenga el grado deseado de pureza con portadores, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables típicamente empleados en la técnica (todos los cuales se mencionan en la presente descripción como "portadores"), es decir, agentes tamponantes, agentes estabilizantes, conservantes, isotonicadores, detergentes no iónicos, antioxidantes y otros aditivos misceláneos. Véase, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16va edición (Osol, edición, 1980). Tales aditivos no deben ser tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas.

Los agentes tamponantes ayudan a mantener el pH en el rango que se aproxima a las condiciones fisiológicas. Pueden estar presentes en una amplia variedad de concentraciones, pero típicamente estarán presentes en concentraciones que varían de aproximadamente 2 mM a aproximadamente 50 mM. Los agentes tamponantes adecuados para su uso en la presente descripción incluyen ácidos orgánicos e inorgánicos y sales de los mismos tales como tampones de citrato (por ejemplo, mezcla de citrato monosódico-citrato disódico, mezcla de ácido cítrico-citrato trisódico, mezcla de ácido cítrico-citrato monosódico, etcétera), tampones de succinato (por ejemplo, mezcla de ácido succínico y succinato monosódico, mezcla de ácido succínico e hidróxido de sodio, mezcla de ácido succínico y succinato disódico, etcétera), tampones de tartrato (por ejemplo, mezcla de ácido tartárico-tartrato de sodio, mezcla de ácido tartárico y tartrato de potasio, mezcla de ácido tartárico e hidróxido de sodio, etcétera), tampones de fumarato (por ejemplo, mezcla de ácido fumárico-fumarato monosódico, mezcla de ácido fumárico-fumarato disódico, mezcla de fumarato monosódico-fumarato disódico, etcétera), tampones de gluconato (por ejemplo, mezcla de ácido glucónico-gluconato de sodio,

mezcla de ácido glucónico-hidróxido de sodio, mezcla de ácido glucónico-gluconato de potasio, etcétera), tampón de oxalato (por ejemplo, mezcla de ácido oxálico-oxalato de sodio, ácido oxálico-hidroxi de sodio de mezcla, mezcla de ácido oxálico-oxalato de potasio, etcétera), tampones de lactato (por ejemplo, mezcla de ácido láctico-lactato de sodio, mezcla de ácido láctico-hidróxido de sodio, mezcla de ácido láctico-lactato de potasio, etcétera) y tampones de acetato (por ejemplo, mezcla de ácido acético-acetato de sodio, mezcla de ácido acético-hidróxido de sodio, etcétera). Además, pueden usarse tampones de fosfato, tampones de histidina y sales de trimetilamina tales como Tris.

Pueden añadirse conservantes para retardar el crecimiento microbiano, y pueden añadirse en cantidades que varían de aproximadamente 0,2 % -1 % (p/v). Los conservantes adecuados para usar con la presente descripción incluyen fenol, alcohol bencílico, meta-cresol, metil parabeno, propil parabeno, cloruro de octadecildimetilbencilamonio, haluros de benzalconio (por ejemplo, cloruro, bromuro y yoduro), cloruro de hexametonio y alquil parabenos tales como metil o propil parabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol y 3-pentanol. Pueden añadirse isotonicificadores a veces conocidos como "estabilizadores" para asegurar la isotonicidad de las composiciones líquidas de la presente descripción e incluyen alcoholes de azúcar polihídricos, por ejemplo, alcoholes de azúcar trihidroxilados o superiores, tales como glicerina, eritritol, arabitol, xilitol, sorbitol y manitol. Los estabilizadores se refieren a una amplia categoría de excipientes que pueden variar en función de un agente de carga a un aditivo que solubiliza el agente terapéutico o ayuda a prevenir la desnaturalización o la adherencia a la pared del recipiente. Los estabilizadores típicos pueden ser alcoholes de azúcar polihídricos (enumerados anteriormente); aminoácidos como arginina, lisina, glicina, glutamina, asparagina, histidina, alanina, ornitina, L-leucina, 2-fenilalanina, ácido glutámico, treonina, etcétera, azúcares orgánicos o alcoholes de azúcar, como lactosa, trehalosa, estaquiosa, manitol, sorbitol, xilitol, ribitol, mioinositol, galactitol, glicerol y similares, incluidos los cicitolos como el inositol; polietilenglicol; polímeros de aminoácidos; agentes reductores que contienen azufre, tales como urea, glutatión, ácido tióctico, tioglicolato de sodio, tioglicerol, α -monotioglicerol y tiosulfato de sodio; polipéptidos de bajo peso molecular (por ejemplo, péptidos de 10 residuos o menos); proteínas tales como albúmina sérica humana, albúmina sérica bovina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, tales como monosacáridos de polivinilpirrolidona, tales como xilosa, manosa, fructosa, glucosa; disacáridos tales como lactosa, maltosa, sacarosa y trehalosa; y trisacáridos tales como rafinosa; y polisacáridos como el dextrano. Los estabilizadores pueden estar presentes en cantidades que varían de 0,5 a 10 % en peso por peso de ADC.

Pueden añadirse surfactantes o detergentes no iónicos (también conocidos como "agentes humectantes") para ayudar a solubilizar la glucoproteína, así como para proteger la glucoproteína contra la agregación inducida por la agitación, que también permite que la formulación se exponga a la superficie de cizallamiento estresada sin causar desnaturalización de la proteína. Tensioactivos no iónicos adecuados incluyen polisorbatos (20, 80, etcétera), poloxámeros (184, 188 etcétera), y polioles plurónicos. Los tensioactivos no iónicos pueden estar presentes en un intervalo de aproximadamente 0,05 mg/ml a aproximadamente 1,0 mg/ml, por ejemplo, aproximadamente 0,07 mg/ml a aproximadamente 0,2 mg/ml.

Los excipientes misceláneos adicionales incluyen agentes de carga (por ejemplo, almidón), agentes quelantes (por ejemplo, EDTA), antioxidantes (por ejemplo, ácido ascórbico, metionina, vitamina E) y codisolventes.

Una composición acuosa ilustrativa adecuada para la administración por infusión intravenosa comprende 20 mg/ml de anti-huLRRC15 ADC, tampón de histidina 10 mM, pH 6,0, sacarosa al 7 % (p/v), polisorbato 80 al 0,03 % (p/v). La composición puede estar en forma de un polvo liofilizado que, tras la reconstitución con 5,2 ml de agua estéril u otra solución adecuada para inyección o infusión (por ejemplo, solución salina al 0,9 %, solución de Ringer, solución de Ringer lactato, etcétera) proporciona la composición acuosa anterior. Las composiciones también pueden estar en forma de una jeringa u otro dispositivo adecuado para inyección y/o infusión precargada con una cantidad de composición adecuada para una administración única de ADC anti-huLRRC15.

7.7. Métodos de uso

Como se discutió anteriormente, para una variedad de tumores sólidos, huLRRC15 se expresa en el microambiente del estroma tumoral, pero no en las células cancerosas *per se*. Los datos proporcionados en la presente descripción demuestran que los ADC anti-huLRRC15 ejercen una potente actividad antitumoral contra estos tumores del estroma(+)/cáncer(-) *in vivo*. Por consiguiente, los ADC y/o las composiciones farmacéuticas que comprenden los ADC pueden usarse terapéuticamente para tratar tumores del estroma(+)/cáncer(-).

Generalmente, los métodos implican administrar a un paciente humano que tiene un tumor del estroma(+)/cáncer(-) una cantidad de un ADC anti-huLRRC15 efectiva para proporcionar un beneficio terapéutico. Los tumores del estroma(+)/cáncer(-) que pueden tratarse con los ADC incluyen, entre otros, cánceres suprarrenales, cánceres de vejiga, cánceres de mama (por ejemplo, Cáncer de mama ductal, cáncer de mama lobular, cáncer de mama triple negativo), cánceres cervicales, cánceres de endometrio, cánceres gástricos, cánceres de pulmón (por ejemplo, mesotelioma y cánceres de pulmón de células no pequeñas como el adenocarcinoma de pulmón de células no pequeñas y cáncer de pulmón escamoso de células no pequeñas), cánceres de cabeza y cuello, cánceres de hígado (por ejemplo, carcinomas hepatocelulares), linfomas (por ejemplo, linfomas no Hodgkin como el linfoma de células del manto, linfoma folicular, linfoma difuso de células B grandes), cáncer pancreático, cáncer colorrectal, cáncer de ovario, cáncer renal, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer de tiroides, y cánceres uterinos. El cáncer puede haberse

diagnosticado recientemente y no haberse tratado, o puede ser recidivante, refractario o recidivante y refractario, o una forma metastásica de un tumor huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-).

5 De hecho, como se demuestra en las Figuras 20A-20E, los ADC anti-huLRRC15 son más efectivos que los agentes anticancerígenos no dirigidos y dirigidos contra una variedad de tumores del estroma(+)/cáncer(-). Como se demuestra en las Figuras 20A-20E, los tumores del estroma(+)/cáncer(-) que presentan resistencia a otras quimioterapias dirigidas o no dirigidas, conservan la sensibilidad a los ADC anti-huLRRC15.

10 Además, como se muestra en la Figura 14, los tumores del estroma(+)/cáncer(-) que eventualmente vuelven a crecer después del tratamiento con ADC anti-huLRRC15 siguen siendo sensibles al retratamiento con ADC anti-huLRRC15. Por consiguiente, los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción proporcionan beneficios significativos en relación con los enfoques actuales dirigidos y no dirigidos para el tratamiento de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-).

15 Si bien no desean limitarse a la teoría, los ADC anti-huLRRC15 pueden exhibir un efecto antitumoral en parte al matar las células cancerosas que han sufrido una transición epitelial-mesenquimatoso (EMT) y han adquirido propiedades similares a las células madre, tal como un fenotipo mesenquimatoso. Los datos proporcionados en la presente descripción indican que las células cancerosas que adquirieron propiedades de tipo mesenquimatoso exhibieron una mayor expresión de huLRRC15 que las células con características epiteliales (Figuras 10 y 11A-11C). Las células cancerosas que experimentaron una transición EMT fueron más sensibles a un ADC anti-huLRRC15 que las células cancerosas epiteliales (Figura 23D). El mayor efecto destructivo puede deberse en parte a la localización del ADC en las células que expresan LRRC15, acompañado de la liberación del agente citotóxico. En consecuencia, un efecto antitumoral exhibido por la administración de un ADC anti-huLRRC15 (Figuras 24A-24G) puede ser el resultado de la selección y destrucción de células cancerosas que experimentaron EMT y adquirieron propiedades similares a las células madre cancerosas.

20 Las Figuras 9A-9C demuestran que las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea, que se hipotetiza se localizan en el microambiente tumoral y forman parte del estroma tumoral, exhibieron niveles significativos de expresión de huLRRC15 (Karnoub, AE y otros, Nature (2007), 449, 557-563; Droujinine, IA y otros, Oncotarget (2013), 4(5), 651-664). Además, el TGFβ puede inducir una expresión significativa de huLRRC15 en estas células madre mesenquimatosas (Figuras 9A-9C). Las células madre mesenquimales de médula ósea (BM-MS) estimuladas con TGFβ para expresar niveles significativos de LRRC15 (Figuras 23B y 23C), fueron sensibles a la muerte por un ADC anti-huLRRC15. El efecto destructor puede ser el resultado en parte de la localización en células que expresan LRRC15 por el ADC, seguido de la liberación del agente citotóxico. Por consiguiente, un efecto antitumoral exhibido por la administración de un ADC anti-huLRRC15 (Figuras 24A-24G) puede ser el resultado de la selección y/o eliminación de células madre mesenquimales que forman parte de la población de fibroblastos en el microambiente del estroma tumoral. Además, las Figuras 23B y 23C demuestran que las células madre mesenquimales pueden absorber y procesar los ADC anti-huLRRC15, que pueden eliminar directamente a las células madre mesenquimales, así como también a las células cancerosas cercanas a las células madre mesenquimales a través de un efecto de eliminación de las células de la vecindad a través de la liberación del agente citotóxico y/o citostático.

30 Los ADC anti-huLRRC15 pueden administrarse solos (monoterapia) o como complemento de otras terapias contra el cáncer y/o agentes contra el cáncer dirigidos o no dirigidos. Cuando se administra como monoterapia con ADC anti-huLRRC15, pueden usarse uno o más ADC anti-huLRRC15. Ya sea que se administre como monoterapia o como complemento de otras terapias o agentes, se administra una cantidad de ADC anti-huLRRC15 de manera que el régimen de tratamiento general proporcione un beneficio terapéutico.

35 Por beneficio terapéutico se entiende que el uso de ADC anti-huLRRC15 para tratar el cáncer en un paciente da como resultado una mejora demostrada en la supervivencia en comparación con no aplicar una terapia (cuando sea apropiado) o con una terapia estándar de atención conocida. En algunos casos, el beneficio terapéutico puede constituir una mejora en el tiempo hasta la progresión de la enfermedad junto con una mejora en los síntomas o la calidad de vida. En otros casos, el beneficio terapéutico puede no traducirse en un mayor período de control de la enfermedad, sino más bien en una carga de síntomas marcadamente reducida que resulta en una mejor calidad de vida. Como será evidente para los expertos en la técnica, puede observarse un beneficio terapéutico usando los ADC anti-huLRRC15 solos (monoterapia) o complementarios a, o con, otras terapias contra el cáncer y/o agentes contra el cáncer dirigidos o no dirigidos.

40 Típicamente, el beneficio terapéutico se evalúa mediante pruebas clínicas estándares diseñadas para medir la respuesta a un nuevo tratamiento contra el cáncer. Para evaluar los beneficios terapéuticos de los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción, puede usarse una o una combinación de las siguientes pruebas: (1) Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1, (2) RECIST relacionado con el sistema inmune (irRECIST), (3) el estado de rendimiento del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), (4) criterios de respuesta relacionados con el sistema inmunitario (irRC), (5) enfermedad evaluable mediante la evaluación de antígenos tumorales, (6) escalas de resultados validadas informadas por los pacientes y/o (7) estimaciones de Kaplan-Meier para la supervivencia general y la supervivencia libre de progresión.

La evaluación del cambio en la carga tumoral es una característica importante de la evaluación clínica de la terapéutica del cáncer. Tanto la reducción del tumor (respuesta objetiva) como el tiempo para el desarrollo de la progresión de la enfermedad son puntos finales importantes en los ensayos clínicos sobre el cáncer. Los criterios de respuesta estandarizados, conocidos como RECIST (Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos), se publicaron en 2000. Una actualización (RECIST 1.1) se mostró en 2009. Los criterios RECIST se usan típicamente en ensayos clínicos en los que la respuesta objetiva es el criterio de valoración principal del estudio, así como en los ensayos en los que se realizan evaluaciones de enfermedad estable, progresión tumoral o tiempo de progresión, ya que estas medidas de resultado se basan en una evaluación de la carga tumoral anatómica y su cambio en el transcurso de la evaluación. La TABLA 3 proporciona las definiciones de los criterios de respuesta utilizados para determinar la respuesta tumoral objetiva a un fármaco del estudio, como los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción.

TABLA 3	
Respuesta	Criterios
Respuesta completa (CR)	Desaparición de todas las lesiones del objetivo. Cualquier ganglio linfático patológico (ya sea objetivo o no objetivo) debe tener una reducción en el eje corto a <10 mm.
Respuesta parcial (PR)	Al menos una disminución del 30 % en la suma de los diámetros de las lesiones objetivo, tomando como referencia los diámetros de la suma basal.
Enfermedad progresiva (PD)	Al menos un aumento del 20 % en la suma de los diámetros de las lesiones objetivo, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma inicial si es la más pequeña en el estudio). Además del aumento relativo del 20 %, la suma también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm. (Nota: la aparición de una o más lesiones nuevas también se considera progresión).
Enfermedad estable (SD)	Ni una contracción suficiente para calificar para PR ni un aumento suficiente para calificar para PD, tomando como referencia los diámetros de suma más pequeños durante el estudio.

Las secundarias medidas del resultado que pueden usar para determinar el beneficio terapéutico de los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción incluyen: tasa de respuesta del objetivo (ORR), supervivencia libre de progresión (PFS), supervivencia general (OS), duración de la respuesta general (DOR), y profundidad de respuesta (DpR). La ORR se define como la proporción de los participantes que logran una respuesta completa (CR) o una respuesta parcial (PR). La PFS se define como el tiempo desde la fecha de la primera dosis de un ADC anti-huLRRC15 hasta la progresión de la enfermedad o la muerte, lo que ocurra primero. La OS se define como el tiempo transcurrido desde la fecha del diagnóstico o el inicio del tratamiento de una enfermedad, en que los pacientes diagnosticados con la enfermedad todavía están vivos. DOR se define como el tiempo desde el CR o PR inicial del paciente hasta el momento de progresión de la enfermedad. DpR se define como el porcentaje de reducción del tumor observado en el punto de respuesta máximo en comparación con la carga tumoral basal. Los criterios de valoración clínicos para ORR y PFS se pueden determinar según los criterios RECIST 1.1 descritos anteriormente.

Los criterios adicionales que pueden usarse para la evaluación clínica específica de pacientes con cáncer sometidos a tratamiento de inmunoterapia incluyen los criterios estandarizados RECIST (irRECIST) relacionados con el sistema inmune. Véase, por ejemplo, Nishino, M. y otros Eur. J. Radiol., 84(7), páginas 1259-1268 (julio de 2015). Estas pautas modificaron los criterios RECIST 1.1 anteriores con la consideración de los posibles efectos inmunomoduladores. La TABLA 5 proporciona las definiciones de los criterios de respuesta utilizados para determinar la respuesta del tumor objetivo a un fármaco inmunomodulador, tal como los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción.

TABLA 4	
Respuesta	Criterios
Respuesta completa (irCR)	Desaparición completa de todas las lesiones medibles y no medibles. Los ganglios linfáticos deben disminuir a <10 mm en el eje corto.
Respuesta parcial (irPR)	Disminución de $\geq 30\%$ en la carga tumoral total medida en relación con la línea base, las lesiones no objetivo son irNN y no hay progresión inequívoca de nuevas lesiones no medibles
Enfermedad progresiva (irPD)	Al menos un aumento del 20 % y un aumento absoluto de al menos 5 mm en la TMTB en comparación con el nadir o irPD para lesiones no objetivo o nuevas lesiones no medibles. Se recomienda confirmar la progresión al menos 4 semanas después de la primera evaluación de irPD.
No irCR o no irPD (irNN)	No se identificó enfermedad objetivo al inicio del estudio y en el seguimiento el paciente no cumple con los criterios para irCR o irPD
Enfermedad estable (irSD)	Ni reducción suficiente para calificar para irPR ni aumento suficiente para calificar para irPD, tomando como referencia los diámetros de suma más pequeños durante el estudio.
irNE	Usado en casos excepcionales en los que no hay datos suficientes.

La escala de estado de desempeño de acuerdo a ECOG que se muestra en la TABLA 5 se utiliza para describir el nivel de funcionamiento del paciente en términos de su capacidad para cuidarse a sí mismos, la actividad diaria y la capacidad física. La escala fue desarrollada por el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG), que ahora forma parte del ECOG-ACRIN Cancer Research Group, y se publicó en 1982.

TABLA 5	
Grado	Estado de desempeño de acuerdo con ECOG
0	Totalmente activo, capaz de llevar a cabo todo el desempeño previo a la enfermedad sin restricciones
1	Restringido en actividad física extenuante, pero ambulatorio y capaz de realizar trabajos de naturaleza ligera o sedentaria, por ejemplo, trabajo ligero en casa, trabajo de oficina
2	Ambulatorio y capaz de autocuidado, pero incapaz de realizar actividades laborales; más del 50 % de las horas de vigilia
3	Capaz solamente de autocuidado limitado; confinado a la cama o silla más del 50 % de las horas de vigilia
4	Completamente discapacitado; no puede realizar ningún tipo de autocuidado; totalmente confinado a la cama o silla
5	Muerto

Otro conjunto de criterios que pueden utilizarse para caracterizar completamente y determinar la respuesta a los agentes inmunoterapéuticos, como las terapias contra el cáncer basadas en anticuerpos, es el criterio de respuesta inmunitaria (irRC), que se desarrolló para medir tumores sólidos en 2009, y actualizado en 2013 (Wolchok, y otros Clin. Cancer Res. 2009; 15(23): 7412-7420 y Nishino, y otros Clin. Cancer Res. 2013; 19(14): 3936-3943). Los criterios actualizados de irRC se usan típicamente para evaluar el efecto de un agente inmunoterapéutico, como un ADC anti-huLRRC15 como se describe en la presente descripción, sobre la carga tumoral, y define la respuesta de acuerdo con la TABLA 6.

TABLA 6	
Respuesta	Criterios
Respuesta completa (CR)	Desaparición de todas las lesiones objetivo en dos observaciones consecutivas con no menos de 4 semanas de diferencia
Respuesta parcial (PR)	Al menos una disminución del 30 % en la suma de los diámetros más grandes de las lesiones objetivo, tomando como referencia los diámetros de la suma basal.
Enfermedad progresiva (PD)	Al menos un aumento del 20 % en la suma de los diámetros de las lesiones objetivo, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma inicial si es la más pequeña en el estudio). (Nota: la aparición de una o más lesiones nuevas no se considera progresión. La medición de nuevas lesiones se incluye en la suma de las mediciones).
Enfermedad estable (SD)	Ni una contracción suficiente para calificar para PR ni un aumento suficiente para calificar para PD, tomando como referencia los diámetros de suma más pequeños durante el estudio.

Los antígenos tumorales que pueden usarse para evaluar el beneficio terapéutico de los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción incluyen ApoE, CD11c, CD40, CD45 (PTPRC), CD49D (ITGA4), CD80, CSF1R, CTSD, GZMB, Ly86, MS4A7, PIK3AP1, PIK3CD, CD74, CCL5, CCR5, CXCL10, IFNG, IL10RA1, IL-6, ACTA2, COL7A1, LOX, LRRC15, MCPT8, MMP10, NOG, SERPINE1, STAT1, TGFB1, CTSS, PGF, VEGFA, C1QA, C1QB, ANGPTL4, EGLN, ANGPTL4, EGLN3, BNIP3, AIF1, CCL5, CXCL10, CXCL11, IFI6, PLOD2, KISS1R, STC2, DDIT4, PFKFB3, PGK1, PDK1, AKR1C1, AKR1C2, CADM1, CDH11, COL6A3, CTGF, HMOX1, KRT33A, LUM, WNT5A, IGFBP3, MMP14, CDCP1, PDGFRA, TCF4, TGF, TGFB1, TGFB2, CD11b, ADGRE1 (EMR1, F4/80), CD86, CD68, MHC-Class II, CD3, HLA-DR, CD4, CD3, CD5, CD19, CD7, CD8, CD16, TCRαβ, TCRγδ, PD-1, PDL-1, CTLA-4, fosfatasa ácida, ACTH, fosfatasa alcalina, alfafetoproteína CA-125, CA15-3, CA19-9, CA-195, C-212, CA-549, calcitonina, catecolaminas, catepsina-D, CEA, ERBB2 (HER2/neu), cromagranina-A, c-Myc, EGFR, ERA (ensayo del receptor de estrógenos), ferritina, gastrina, 5-HIAA, hCG, alfa-hCG, beta-hCG, HVA, LDH1-5, NSE (enolasa específica de neurona), polipéptido pancreático, PLAP, PLP, PRA (receptor de progesterona A), péptido C de proinsulina, PSA, SMA, SCC, tiroglobulina, TDT, TPA y alfa-TSH. Estos antígenos pueden evaluarse a nivel de ADN, ARN o proteína utilizando técnicas de secuenciación de ADN, técnicas de secuenciación de ARN, microarreglos de chips genéticos, métodos basados en PCR, citometría de flujo o métodos de inmunohistoquímica como los expertos en la materia conocen.

Un beneficio terapéutico ilustrativo resultante del uso de los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción para tratar tumores estroma(+)/cáncer(-), ya sea administrados como monoterapia o complementarios a otras terapias o agentes, es una respuesta completa. Otro beneficio terapéutico ilustrativo resultante del uso de los ADC anti-huLRRC15 descritos en la presente descripción para tratar tumores estroma(+)/cáncer(-), ya sea administrados como monoterapia o como complemento de otras terapias o agentes, es una respuesta parcial.

Las escalas de resultados informadas por el paciente validadas también pueden usarse para denotar la respuesta proporcionada por cada paciente a través de un sistema de informe específico. En lugar de centrarse en la enfermedad, tales escalas de resultados se refieren a la función retenida mientras se maneja una condición crónica. Un ejemplo no limitativo de una escala de resultados informada por el paciente validada es PROMIS® (sistema de información de medición de resultados informados por el paciente) de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos. Por ejemplo, el instrumento de función física PROMIS® para pacientes adultos con cáncer puede evaluar las capacidades autorreportadas para el funcionamiento de las extremidades superiores (por ejemplo, la destreza), las extremidades inferiores (por ejemplo, caminar o la movilidad) y las regiones centrales (por ejemplo, el cuello, la movilidad de la espalda), y también incluye actividades diarias de rutina, como hacer mandados.

Curvas de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier, J. Am. Stat. Asoc. 1958; 53 (282): 457-481) también puede utilizarse para estimar la supervivencia general y la supervivencia libre de progresión para pacientes con cáncer sometidos a la terapia con anticuerpos anti-huLRRC15 o ADC en comparación con la atención estándar.

7.7.1. Terapias complementarias

Los ADC anti-huLRRC 15 pueden usarse como adyuvantes de otros agentes o tratamientos que tienen propiedades anticancerígenas o junto con ellos. Cuando se usa de forma complementaria, el anti-huLRRC15 y otros agentes pueden formularse juntos en una sola formulación farmacéutica combinada, o pueden formularse y administrarse por separado, ya sea en un único régimen de dosificación coordinada o en diferentes regímenes de dosificación. Los agentes administrados de forma complementaria con ADC anti-huLRRC15 tendrán típicamente actividades complementarias a los ADC anti-huLRRC15 de manera que los ADC y otros agentes no se afecten negativamente entre sí.

Los agentes que pueden usarse de forma complementaria con ADC anti-huLRRC15 incluyen, pero no se limitan a, agentes alquilantes, inhibidores de la angiogénesis, anticuerpos, antimetabolitos, antimetabólicos, antiproliferativos, antivirales, inhibidores de quinasa Aurora, promotores de la apoptosis (por ejemplo, inhibidores de la familia Bcl-2), activadores de la vía del receptor de muerte, inhibidores de la quinasa Bcr-Abl, anticuerpos BiTE (atacantes de células T biespecíficos), conjugados fármaco-anticuerpo, modificadores de la respuesta biológica, inhibidores de quinasas dependientes de ciclina, inhibidores del ciclo celular, inhibidores de la ciclooxigenasa-2, DVD, inhibidores del receptor de leucemia homólogo oncogénico viral (ErbB2), inhibidores del factor de crecimiento de inhibidores de la proteína de choque térmico (HSP)-90, inhibidores de histona desacetilasa (HDAC), terapias hormonales, inmunológicas, inhibidores de inhibidores de proteínas de apoptosis (IAP), antibióticos intercalados, quinasa inhibidores, inhibidores de la kinesina, inhibidores de Jak2, inhibidores del blanco de la rapamicina en mamíferos, microARN, inhibidores de la quinasa regulada por señal extracelular activada por mitógeno, proteínas de unión multivalentes, antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs), inhibidores de la poli ADP (difosfato de adenosina)-ribosa polimerasa (PARP), quimioterapéuticos de platino, inhibidores de la quinasa tipo polo (Plk), inhibidores de la fosfoinositol-3 quinasa (PI3K), inhibidores del proteasoma, análogos de purina, análogos de pirimidina, inhibidores de receptores tirosina quinasa, alcaloides de plantas retinoides/deltooides, inhibidores pequeños de ácidos ribonucleicos (siARN), inhibidores de la topoisomerasa, inhibidores de la ubiquitina ligasa y similares, así como combinaciones de uno o más de estos agentes.

Los anticuerpos BiTE son anticuerpos biespecíficos que dirigen a las células T a atacar las células cancerosas al unir simultáneamente las dos células. La célula T después ataca a la célula cancerosa objetivo. Los ejemplos de anticuerpos BiTE incluyen adecatumumab (Micromet MT201), blinatumomab (Micromet MT103) y similares. Sin estar limitado por la teoría, uno de los mecanismos por los cuales las células T provocan la apoptosis de la célula cancerosa objetivo es la exocitosis de los componentes del gránulo citolítico, que incluyen perforina y granzima B.

Los siARN son moléculas que tienen bases endógenas de ARN o nucleótidos modificados químicamente. Las modificaciones no eliminan la actividad celular, sino que imparten mayor estabilidad y/o mayor potencia celular. Los ejemplos de modificaciones químicas incluyen grupos fosforotioato, 2'-desoxinucleótidos, ribonucleótidos que contienen 2'-OCH₃, 2'-F-ribonucleótidos, 2'-metoxietilo-ribonucleótidos, combinaciones de los mismos y similares. El siARN puede tener diferentes longitudes (por ejemplo, 10-200 bps) y estructuras (por ejemplo, horquillas, hebras simples/dobles, protuberancias, mellas/huecos, desapareamientos) y se procesan en las células para proporcionar silenciamiento genético activo. Un siARN de doble cadena (dsRNA) puede tener el mismo número de nucleótidos en cada cadena (extremos romos) o extremos asimétricos (sobresalientes). Los 1-2 nucleótidos sobresalientes pueden estar presentes en la cadena sentido y/o la cadena antisentido, así como también en los extremos 5' y/o 3' de una cadena dada.

Las proteínas de unión multivalentes son proteínas de unión que comprenden dos o más sitios de unión al antígeno. Las proteínas de unión multivalente están diseñadas para tener los tres o más sitios de unión al antígeno y, en general, no son anticuerpos naturales. El término "proteína de unión multiespecífica" se refiere a una proteína de unión capaz de unir dos o más objetivos relacionados o no relacionados. Las proteínas de unión de dominio variable dual (DVD) son proteínas de unión tetravalente o multivalente que se unen a dos o más sitios de unión al antígeno. Tales DVD pueden ser monoespecíficas, es decir, ser capaces de unirse a un antígeno o multiespecíficas, es decir, ser capaces de unirse a dos o más antígenos. Las proteínas de unión DVD que comprenden dos polipéptidos DVD de la cadena pesada y dos polipéptidos DVD de la cadena ligera se refieren a una Ig DVD. Cada mitad de una Ig DVD comprende un polipéptido DVD de la cadena pesada y un polipéptido DVD de la cadena ligera y dos sitios de unión al antígeno. Cada sitio de unión comprende un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera con un total de 6 CDR involucradas en la unión al antígeno por sitio de unión al antígeno.

Los agentes alquilantes incluyen, entre otros, altretamina, AMD-473, AP-5280, apaziquona, bendamustina, brostallicina, busulfano, carboquona, carmustina (BCNU), clorambucilo, CLORETAZINE® (laromustina, VNP 40101M), ciclofosfamida, dacofosfamida, dacofosfamida estramustina, fotemustina, glufosfamida, ifosfamida, KW-2170, lomustina (CCNU), mafosfamida, melfalan, mitobronitol, mitolactol, nimustina, mostaza nitrogenada, N-óxido, ranimustina, temozolomida, tiotepa, TREANDA®, treosamida, trofosamida, trofosamida y treosamida.

Los inhibidores de la angiogénesis incluyen, entre otros, inhibidores del receptor tirosina quinasa endotelial específico (Tie-2), inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), inhibidores del receptor del factor de crecimiento de insulina-2 (IGFR-2), inhibidores de la metaloproteínasa de matriz-2 (MMP-2), inhibidores de la metaloproteínasa de matriz 9 (MMP-9), inhibidores del receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), análogos de la trombospondina e inhibidores del receptor tirosina quinasa del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR).

Los antimetabolitos incluyen, pero no se limitan a, ALIMTA® (pemetrexed disódico, LY231514, MTA), 5-azacitidina, XELODA® (capecitabina), carmofur, LEUSTAT® (cladribina), clofarabina, citarabina, citarabina ocfosfato, citosina arabinósido, decitabina, deferoxamina, doxifluridina, eflornitina, EICAR (5-etinil-1-β-D-ribofuranosilimidazol-4-carboxamida), enocitabina, etilciticidina, fludarabina, 5-fluorouracilo solo o en combinación con leucovorina, GEMZAR® (gemcitabina), hidroxiaurea, ALKERA® (melfalán), mercaptopurina, ribósido de 6-mercaptopurina, metotrexato, ácido micofenólico, nelarabina, nolatrexed, ocfosfato, pelitrexol, pentostatina, raltitrexed, ribavirina, triapina, trimetrexato, S-1, tiazofrabina, tegafurina, TS-1, vidarabina y UFT.

- Los antivirales incluyen, entre otros, ritonavir, aciclovir, cidofovir, ganciclovir, foscarnet, zidovudina, ribavirina e hidroxiclороquina.
- 5 Los inhibidores de la quinasa Aurora incluyen, entre otros, ABT-348, AZD-1152, MLN-8054, VX-680, inhibidores de quinasa específicos de Aurora A, inhibidores de quinasa específicos de Aurora B e inhibidores de la quinasa pan-Aurora.
- 10 Los inhibidores de la proteína Bcl-2 incluyen, entre otros, AT-101 ((-)-gospol), GENASENSE® (G3139 u oblimersen (oligonucleótido antisentido dirigido a Bcl-2)), IPI-194, IPI-565, N-(4-(4-((4'-cloro (1,1"-bifenil)-2-il)metil)piperazin-1-il)benzoil)-4-(((1R)-3-(dimetilamino)-1-((fenilsulfanil)metil)propil)amino)-3-nitrobenzenosulfonamida, N-(4-(4-((2-(4-clorofenil)-5,5-dimetil-1-ciclohex-1-es-1-il)metil)piperazin-1-il)benzoil)-4-(((1R)-3-(morfolin-4-il)-1-((fenilsulfanil)metil)propil)amino)-3-((trifluorometil)sulfonil)benzenosulfonamida, venetoclax y GX-070 (obatoclax).
- 15 Los inhibidores de la quinasa Bcr-Abl incluyen, entre otros, DASATINIB® (BMS-354825) y GLEEVEC® (imatinib).
- Los inhibidores de CDK incluyen, entre otros, AZD-5438, BMI-1040, BMS-032, BMS-387, CVT-2584, flavopiridol, GPC-286199, MCS-5A, PD0332991, PHA-690509, seliciclib (CYC-202, R-roscovitina) y ZK-304709.
- 20 Los inhibidores de COX-2 incluyen, entre otros, ABT-963, ARCOXIA® (etoricoxib), BEXTRA® (valdecoxib), BMS347070, CELEBREX® (celecoxib), COX-189 (lumiracoxib), CT-3, DERAMAXX® (deracoxib), JTE-522, 4-metil-2-(3,4-dimetilfenil)-1-(4-sulfamoilfenil-1H-pirrol), MK-663 (etoricoxib), NS-398, parecoxib, RS-57067, SC-58125, SD-8381, SVT-2016, S-2474, T-614 y VIOXX® (rofecoxib).
- 25 Los inhibidores de EGFR incluyen, pero no se limitan a, ABX-EGF, inmunoliposomas anti-EGFR, vacuna EGF, EMD-7200, ERBITUX® (cetuximab), HR3, anticuerpos IgA, IRESSA® (gefitinib), TARCEVA® (erlotinib u OSI-774), TP-38, proteína de fusión a EGFR y TYKERB® (lapatinib).
- 30 Los inhibidores del receptor ErbB2 incluyen, entre otros, CP-724-714, CI-1033 (canertinib), HERCEPTIN® (trastuzumab), TYKERB® (lapatinib), OMNITARG® (2C4, pertuzumab), TAK-165, GW-572016 (ionafarnib), GW-282974, EKB-569, PI-166, dHER2 (vacuna HER2), APC-8024 (vacuna HER-2), anticuerpo biespecífico anti-HER/2neu, B7.her2IgG3, anticuerpos biespecíficos trifuncionales AS HER2, mAB AR-209 y mAB 2B-1.
- 35 Los inhibidores de histona desacetilasa incluyen, entre otros, depsipéptido, LAQ-824, MS-275, trapoxina, ácido hidroxámico suberoilánilida (SAHA), TSA y ácido valproico.
- Los inhibidores de HSP-90 incluyen, entre otros, 17-AAG-nab, 17-AAG, CNF-101, CNF-1010, CNF-2024, 17-DMAG, geldanamicina, IPI-504, KOS-953, MYCOGRAB® (anticuerpo recombinante humano contra HSP-90), NCS-683664, PU24FCI, PU-3, radicol, SNX-2112, STA-9090 y VER49009.
- 40 Los inhibidores de las proteínas de apoptosis incluyen, entre otros, HGS1029, GDC-0145, GDC-0152, LCL-161 y LBW-242.
- 45 Los activadores de la vía del receptor de muerte incluyen, entre otros, TRAIL, anticuerpos u otros agentes que se dirigen a TRAIL o a los receptores de muerte (por ejemplo, DR4 y DR5) como Apomab, conatumumab, ETR2-ST01, GDC0145 (lexatumumab), HGS- 1029, LBY-135, PRO-1762 y trastuzumab.
- Los inhibidores de cinesina incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de Eg5 tales como AZD4877, ARRY-520; e inhibidores de CENPE tales como GSK923295A.
- 50 Los inhibidores de JAK-2 incluyen, entre otros, CEP-701 (lesaurtinib), XL019 e INCB018424.
- Los inhibidores de MEK incluyen, entre otros, ARRY-142886, ARRY-438162, PD-325901 y PD-98059.
- 55 Los inhibidores de mTOR incluyen, entre otros, AP-23573, CCI-779, everolimus, RAD-001, rapamicina, temsirolimus, inhibidores ATP-competitivos de TORC1/TORC2, incluyendo PI-103, PP242, PP30 y Torin 1.
- 60 Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos incluyen, entre otros, AMIGESIC® (salsalato), DOLOBID® (diflunisal), MOTRIN® (ibuprofeno), ORUDIS® (cetoprofeno), RELAFEN® (nabumetona), FELDENE® (piroxicam), crema de ibuprofeno, ALEVE® (naproxeno) y NAPROSYN® (naproxeno), VOLTAREN® (diclofenaco), INDOCIN® (indometacina), CLINORIL® (sulindac), TOLECTIN® (tolmetina), LODINE® (etodolac), TORADOL® (ketorolaco) y DAYPRO® (oxaprozina).
- Los inhibidores de PDGFR incluyen, pero no se limitan a, C-451, CP-673 y CP-868596.
- 65 Los agentes quimioterapéuticos de platino incluyen, entre otros, cisplatino, ELOXATIN® (oxaliplatino) eptaplatino, lobaplatino, nedaplatino, PARAPLATIN® (carboplatino), satraplatino y picoplatino.

Los inhibidores de la quinasa tipo polo incluyen, entre otros, BI-2536.

Los inhibidores de la fosfoinositol-3 quinasa (PI3K) incluyen, entre otros, wortmannina, LY294002, XL-147, CAL-120, ONC-21, AEZS-127, ETP-45658, PX-866, GDC-0941, BGT226, BEZ235 y XL765.

5

Los análogos de trombospondina incluyen, entre otros, ABT-510, ABT-567, ABT-898 y TSP-1.

Los inhibidores de VEGFR incluyen, entre otros, AVASTIN® (bevacizumab), ABT-869, AEE-788, ANGIOZYME™ (una ribozima que inhibe la angiogénesis (Ribozyme Pharmaceuticals (Boulder, CO) y Chiron (Emeryville, CA)), axitinib (AG-13736), AZD-2171, CP-547,632, IM-862, MACUGEN® (pegaptamib), NEXAVAR® (sorafenib, BAY43-9006), pazopanib (GW-786034), vatalanib (PTK-787, ZK-222584), SUTENT® (sunitinib, SU-11248), trampa de VEGF y ZACTIMA™ (vandetanib, ZD-6474).

10

Los antibióticos incluyen, pero no se limitan a, antibióticos intercaladores aclarubicina, actinomicina D, amrubicina, annamicina, adriamicina, BLENOXANE® (bleomicina), daunorubicina, CAELYX® o MYOCET® (doxorubicina liposomal), elsamitrucina, epirubicina, glarbuicin, ZAVEDOS® (idarubicin), mitomicina C, nemorubicina, neocarzinostatina, peplomicina, pirarubicina, rebeccamicina, stimalamer, estreptozocina, VALSTAR® (valrubicina) y zinostatina.

15

Los inhibidores de la topoisomerasa incluyen, entre otros, aclarubicina, 9-aminocamptotecina, amonafida, amsacrina, becatearina, belotecán, BN-80915, CAMPTOSAR® (clorhidrato de irinotecán), camptotecina, CARDIOXANE® (dexrazoxina), diflomotecan, diflomotecan, diflomotecan, diflomotecan, diflomotecan PHARMORUBICIN® (epirubicina), etopósido, exatecan, 10-hidroxicamptotecina, gimatecan, lurtotecan, mitoxantrone, Onivyde™ (irinotecan liposomal), orathecin, pirarubicin, pixantrone, rubitecan, sobuzoxane, SN-38, taflupos, top-toide, taflupos y topofluidos.

20

25

Los anticuerpos incluyen, entre otros, AVASTIN® (bevacizumab), anticuerpos específicos de CD40, chTNT-1/B, denosumab, ERBITUX® (cetuximab), HUMAX-CD4® (zanolimumab), anticuerpos específicos de IGF1R, lintuzumab, PANOREX® (edrecolomab), RENCAREX® (WX G250), RITUXAN® (rituximab), ticilimumab, trastuzumab, pertuzumab, VECTIBIX® (panitumumab) y anticuerpos CD20 tipos I y II.

30

Las terapias hormonales incluyen, entre otras, ARIMIDEX® (anastrozol), AROMASIN® (exemestano), arzoxifeno, CASODEX® (bicalutamida), CETROTIDE® (cetorelix), degarelix, deslorelina, DESOPAN® (trilostano), dexametasona, DROGENIL, DROGENIL (flutamida), EVISTA® (raloxifeno), AFEMA™ (fadrozol), FARESTON® (toremifeno), FASLODEX® (fulvestrant), FEMARA® (letrozol), formestano, glucocorticoides, HECTOROL® (doxercalciferol), RENAGELonate® (sevelamercarbonato), lasofoxifeno, acetato de leuprolida, MEGACE® (megesterol), MIFEPREX® (mifepristona), NILANDRON™ (nilutamida), NOLVADEX® (citrate de tamoxifeno), PLENAXIS™ (abarelix), prednisona, PROPECIA® (finasterida), rilostano, SUPREMA® (buserelin), TRELSTAR® (hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH)), VANTAS® (implante de histreolina), VETORYL® (trilostano o modrastano) y ZOLADEX® (fosrelina, goserelina).

35

40

Los deltoides y los retinoides incluyen, entre otros, seocalcitol (EB1089, CB1093), lexacalcitrol (KH1060), fenretinida, PANRETIN® (aliretinoína), ATRAGEN® (tretinoína liposomal), TARGRETIN® (bexaroteno) y LGD-1550.

45

Los inhibidores de PARP incluyen, entre otros, ABT-888 (veliparib), olaparib, KU-59436, AZD-2281, AG-014699, BSI-201, BGP-15, INO-1001 y ONO-2231.

Los alcaloides vegetales incluyen, entre otros, vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina.

50

Los inhibidores del proteasoma incluyen, entre otros, VELCADE® (bortezomib), KYPROLIS® (carfilzomib), MG132, NPI-0052 y PR-171.

Los ejemplos de agentes inmunológicos incluyen, entre otros, interferones, inhibidores del punto de control inmunitario, agentes coestimuladores y otros agentes potenciadores del sistema inmunitario. Los interferones incluyen interferón alfa, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón beta, interferón gamma-1a, ACTIMMUNE® (interferón gamma-1b) o interferón gamman1, combinaciones de los mismos y similares. Los inhibidores del punto de control inmunitario incluyen anticuerpos que se dirigen a PD-1 (por ejemplo, Pembrolizumab, nivolumab), a PD-L1 (por ejemplo, Durvalumab, atezolizumab, avelumab, MEDI4736, MSB0010718C y MPDL3280A), y a CTLA4 (antígeno de linfocito citotóxico 4; por ejemplo, tremelimumab). Los ejemplos de anticuerpos anti-PD-1 adicionales incluyen los descritos en la solicitud provisional de Estados Unidos 62/394,314, como un anticuerpo anti-PD-1 que tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de acuerdo con:

55

60

65

EIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTHYGMNWVRQAPGQGLEWVGVVNTYTGEPTYAD
DFKGRLTFTLDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREGEGLGFGDWGQGTTVTVSSASTKGPSVF
 5 *PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT*
YICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 10 *KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG*
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:91)

o

EIQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTHYGMNWVRQAPGQGLEWVGVVNTYTGEPTYAD
DFKGRLTFTLDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTREGEGLGFGDWGQGTTVTVSSASTKGPSVF
 15 *PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT*
YICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 20 *KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG*
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:92);

y

una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de acuerdo con:

DVVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSIVHSHGDTYLEWYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVDPDR
 FSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCFQGSHIPVTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT
 30 *ASVVCLLNFPYPRKAVQWVKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSKADYEEKHKVYACEVTH*
 35 *QGLSSPVTKSFNRGEC* (SEQ ID NO:93),

en donde los aminoácidos subrayados representan las CDR y los aminoácidos en cursiva representan las regiones constantes.

Los agentes coestimuladores incluyen, entre otros, anticuerpos contra CD3, CD40, CD40L, CD27, CD28, CSF1R, CD137 (por ejemplo, Urelumab), B7H1, GITR, ICOS, CD80, CD86, OX40, OX40L, CD70, HLA-DR, LIGHT, LIGHT-R, TIM3, A2AR, NKG2A, KIR (la SEQ ID NO: 91ab), TGF-β (por ejemplo, Fresolimumab) y sus combinaciones.

Otros agentes incluyen, entre otros, ALFAFERONE® (IFN-α), BAM-002 (glutación oxidado), BEROMUN® (tasonermina), BEXXAR® (tositumomab), CAMPATH® (alemtezumab), dacarbazina, denileukina, epratuzumab, GRANOCYTE® (lenograstim), lentinan, leucocito alfa interferón, imiquimod, vacuna contra el melanoma, mitumomab, molgramostim, MYLOTARG™ (gemtuzumab ozogamicin), NEUPOGEN® (filgrastim), OncoVAC-CL, OVAREX® (oregovomab), pemtumomab (Y-muHMF1), PROVENGE® (sipuleucel-T), sargaramostim, sizofilan, teceleukin, THERACYS® (Bacillus Calmette-Guerin), ubenimex, VIRULIZIN® (inmunoterapéutico, Lorus Pharmaceuticals), Z-100 (Sustancia específica de Maruyama (SSM)), WF- 10 (Tetraclorodecaóxido (TCDO)), PROLEUKIN® (aldesleukin), ZADAXIN® (thymalfasin), ZINBRYTA® (proceso de alto rendimiento de daclizumab) y ZEVALIN® (⁹⁰Y-Ibritumomab tiuxetano).

Los modificadores de la respuesta biológica son agentes que modifican los mecanismos de defensa de los organismos vivos o las respuestas biológicas, como la sobrevivencia, el crecimiento o la diferenciación de las células tisulares para que tengan actividad antitumoral e incluyen, entre otros, krestín, lentinano, sizofirano, picibanilo PF-3512676 (CpG-8954) y ubenimex.

Los análogos de pirimidina incluyen, entre otros, citarabina (araC o arabinósido C), citosina arabinósido, doxifluridina, FLUDARA® (fludarabina), 5-FU (5-fluorouracilo), floxuridina, GEMZAR® (gemcitabina), TOMUDEX® (ratitrexed) y TROXATYL™ (triacetiluridina troxacitabina).

Los análogos de purina incluyen, entre otros, LANVIS® (tioguanina) y PURI-NETHOL® (mercaptapurina).

Los agentes antimetabólicos incluyen, entre otros, batubulina, epotilona D (KOS-862), N-(2-((4-hidroxifenil)amino)piridin-3-il)-4-metoxibencenosulfonamida, ixabepilona (BMS 247550), TAXOL® (paclitaxel), TAXOTERE® (docetaxel), PNU100940 (109881), patupilona, XRP-9881 (larotaxel), vinflunina y ZK-EPO (epotilona sintética).

- 5 Los inhibidores de la ubiquitina ligasa incluyen, entre otros, inhibidores de MDM2, como nutlinas, e inhibidores de NEDD8 como MLN4924.

Los ADC anti-huLRRC15 también pueden usarse para mejorar la eficacia de la radioterapia. Los ejemplos de radioterapia incluyen radioterapia de haz externo, radioterapia interna (es decir, braquiterapia) y radioterapia sistémica.

10 Los ADC anti-huLRRC15 pueden administrarse de forma complementaria a o con otros agentes quimioterapéuticos como ABRAXANE™ (ABI-007), ABT-100 (inhibidor de la farnesil transferasa), ADVEXIN® (vacuna Ad5CMV-p53), ALTOCOR® o MEVACOR® (lovastatina), AMPLIGEN® (poli I: poli C12U, un ARN sintético), APTOSYN® (exisulind), AREDIA® (ácido pamidróico), arglabina, L-asparaginasa, atamestano (1-metil-3,17-diona-androsta-1, 4-dieno), AVAGE® (tazaroteno), AVE-8062 (derivado de combrestatina) BEC2 (mitumomab), cachectina o cachexina (factor de necrosis tumoral), canvaxina (vacuna), CEAVAC® (vacuna contra el cáncer), CELEUK® (celmoleucina), CEPLENE® (diclorhidrato de histamina), CERVARIX® (vacuna contra el virus del papiloma humano), CHOP® (C: CYTOXAN® (ciclofosfamida); H: ADRIAMYCIN® (hidroxidoxorrubicina); O: Vincristina (ONCOVIN®); P: prednisona), CYPAT™ (P: prednisona), CYPAT™ (P acetato de ciproterona), combrestatina A4P, DAB (389) EGF (dominios catalíticos y de translocación de la toxina diftérica fusionada a través de un conector His-Ala al factor de crecimiento epidérmico humano) o TransMID-107R™ (toxinas de difteria), dacarbazina, dactinomicina, ácido 5,6-dimetilxantenona-4-acético (DMXAA), eniluracilo, EVIZON™ (lactato de escualamina), DIMERICINE® (loción de liposoma T4N5), discodermolida, DX-8951f (mesilato de exatecan), enzimas EPO906 (epitilona B), GARDASIL® (virus del papiloma humano cuádrivalente (tipos 6, 11, 16, 18) vacuna recombinante), GASTRIMMUNE®, GENASENSE®, GMK (vacuna conjugada de gangliósido), GVAX® (vacuna contra el cáncer de próstata), halofuginona, histrelina, hidroxycarbamida, ácido ibandrónico, IGN-101, IL-13-PE38, IL-13-PE38QQR (cintredekin besudotox), exotoxina IL-13-pseudomonas, interferón- α , interferón- γ , JUNOVAN™ o MEPACT™ (mifamurtida), lonafarnib, 5,10-metilenetetrahydrofolato, miltefosina (hexadecilfosfolina), NEOVASTAT® (AE-941), NEUTREXIN® (glucuronato de trimetrexato), NIPENT® (pentostatina), ONCONASE® (una enzima ribonucleasa), tratamiento con vacuna contra el melanoma, (melanoma) ONCOVAX® (vacuna IL-2), ORATHECIN™ (rubitecan), OSIDEM® (fármaco celular a base de anticuerpos), OVAREX® MAb (antibiótico monoclonal murino ody), paclitaxel, PANDIMEX™ (saponinas de aglicona del ginseng que comprenden 20 (S) protopanaxadiol (aPPD) y 20(S)protopanaxatriol (aPPT)), panitumumab, PANVAC®-VF (vacuna de investigación contra el cáncer), pegaspargase, PEG Interferón A, fenoododiol, procarbazona, rebimastat, REMOVAB® (catumaxomab), REVLIMID® (lenalidomida), RSR13 (efaproxiral), SOMATULINE® LA (lanreotida), SORIATANE® (acitretina), estaurosporina (Streptomyces staurospores), talabostat (PT100), TARGRETIN® (bexaroteno), TAXOPREXIN® (DHA-paclitaxel), TELCYTA® (canfosfamida, TLK286), temilifeno, TEMODAR® (temozolomida), tesmilifeno, talidomida, THERATOPE® (STn-KLH), timitaq (2-amino-3,4-dihidro-6-metil-4-oxo-5-(4-piridiltio)quinazolina diclorhidrato), TNFERADE™ (adenovector: portador de ADN que contiene el gen para el factor de necrosis tumoral- α), TRACLEER® o ZAVESCA® (bosentan), tretinoína (Retin -A), tetrandrina, TRISENOX® (tríoideo de arsénico), VIRULIZIN®, ukraina (derivado de alcaloides de la planta de celidonia mayor), vitaxina (anticuerpo anti-alfavbeta3), XCYTRIN® (motexafin gadolinio), XINLAY™ (atrasentan), XYOTAX™ (paclitaxel poliglumex), YONDELIS® (trabectedina), ZD-6126, ZINECARD® (dexrazoxano), ZOMETA® (ácido zolendróico) y zorubicina) así como combinaciones de cualquiera de estos agentes.

45 7.8. Dosis y regímenes de administración

La cantidad de ADC anti-huLRRC15 administrada dependerá de una variedad de factores, que incluyen, entre otros, el tipo particular de tumor estroma(+)/cáncer(-) tratado, la etapa del tumor estroma(+)/cáncer(-) que se está tratando, el modo de administración, la frecuencia de administración, el beneficio terapéutico deseado y otros parámetros como la edad, el peso y otras características del paciente, etcétera. La determinación de las dosis efectivas para proporcionar un beneficio terapéutico para modos específicos y la frecuencia de administración está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica.

55 Las dosis efectivas para proporcionar un beneficio terapéutico pueden estimarse inicialmente a partir de modelos animales *in vivo* o modelos clínicos. En la técnica se conocen modelos animales adecuados para una amplia variedad de enfermedades.

Los ADC anti-huLRRC15 pueden administrarse por cualquier vía apropiada para la afección a tratar. Un ADC anti-huLRRC15 se administrará típicamente por vía parenteral, es decir, infusión, subcutánea, intramuscular, intravenosa (IV), intradérmica, intratecal, bolo, inyección intratumoral o epidural ((Shire y otros, 2004, J. Pharm. Science 93(6): 1390-1402)). De acuerdo con un aspecto, se proporciona un ADC anti-huLRRC15 como un polvo liofilizado en un vial. Los viales pueden contener 50 mg, 100 mg o 200 mg de ADC anti-huLRRC15. Antes de la administración, el polvo liofilizado se reconstituye con agua estéril para inyección (SWFI) u otro medio adecuado para proporcionar una solución que contenga 20 mg/ml de ADC anti-huLRRC15. La solución reconstituida resultante se diluye adicionalmente con solución salina u otro medio adecuado y se administra mediante una infusión IV una vez cada 7 días, una vez cada 14 días, una vez cada 21 días o una vez cada 28 días. En algunos aspectos, para el primer ciclo, la infusión

ocurre durante 180 minutos, las infusiones posteriores duran durante 90 minutos. En otros aspectos, la infusión ocurre durante 60 minutos.

5 En un aspecto ilustrativo, se administra un ADC anti-huLRRC15 una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg, 6,0 mg/kg, 6,3 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,9 mg/kg o 7,2 mg/kg.

10 En otro aspecto ilustrativo, se administra un ADC anti-huLRRC15 una vez cada 7 días a 0,15 mg/kg, 0,3 mg/kg, 0,45 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, o 4,2 mg/kg.

15 En otro aspecto ilustrativo, se administra un ADC anti-huLRRC15 una vez cada 28 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg, 6,0 mg/kg, 6,3 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,9 mg/kg, 7,2 mg/kg, 7,5 mg/kg, 7,8 mg/kg, 8,1 mg/kg o 8,4 mg/kg.

20 En otro aspecto ilustrativo, se administra un ADC anti-huLRRC15 una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg, 6,0 mg/kg, 6,3 mg/kg, 6,6 mg/kg, 6,9 mg/kg o 7,2 mg/kg.

25 Cuando se administran como complemento de otros agentes, como otros agentes quimioterapéuticos, los ADC pueden administrarse en el mismo horario que el(los) otro(s) agente(s) o en un esquema diferente. Cuando se administra en el mismo esquema, el ADC puede administrarse antes, después o simultáneamente con el otro agente. En algunos aspectos donde se administra un ADC complementario a, o con, los tratamientos estándares de atención, el ADC se puede empezar antes del comienzo de la terapia estándar, por ejemplo, un día, varios días, una semana, varias semanas, un mes o incluso varios meses antes del comienzo de la terapia estándar de atención.

30 En un aspecto ilustrativo, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de gemcitabina (GEMZAR®) para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La gemcitabina se administra por infusión intravenosa a una dosis de 1000 mg/m² durante 30 minutos una vez por semana durante un máximo de 35 7 semanas, seguido de una semana de descanso del tratamiento. Si se observa mielosupresión, se pueden usar modificaciones de dosis según se proporciona en la información de prescripción de la gemcitabina. Los ciclos posteriores deben consistir en infusiones una vez por semana durante 3 semanas consecutivas de cada 4 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/gemcitabina se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

40 En otro aspecto ilustrativo, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de la formulación de nanopartículas estabilizadas con albúmina de paclitaxel (ABRAXANE®) para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis y el esquema recomendados para la formulación de nanopartículas de estabilizadas con albúmina es de 125 mg/m² administrados como una infusión intravenosa durante 30-40 minutos los días 1, 8 y 15 de cada ciclo de 28 días. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/ABRAXANE® continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

50 En otro aspecto ilustrativo, se usa un ADC anti-huLRRC15 como complemento de la formulación de nanopartículas estabilizadas con albúmina de paclitaxel (ABRAXANE®) más gemcitabina (GEMZAR®) para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis y el esquema recomendados para la formulación de nanopartículas de estabilizadas con albúmina es de 125 mg/m² administrados como una infusión intravenosa durante 30-40 minutos los días 1, 8 y 15 de cada ciclo de 28 días. La gemcitabina se administra por infusión intravenosa a una dosis de 1000 mg/m² durante 30 minutos una vez por semana durante hasta 7 semanas (o hasta que la toxicidad se reduzca o mantenga una dosis), seguido de una semana de descanso del tratamiento. Los ciclos posteriores deben consistir en infusiones una vez por semana durante 3 semanas consecutivas de cada 4 55 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/ABRAXANE®/GEMZAR® se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o el paciente ya no la tolera.

60 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como complemento de TARCEVA® (erlotinib) para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis 65

recomendada y el horario de erlotinib es de 100 mg por vía oral, una vez al día. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/erlotinib se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

5 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de FOLFIRINOX para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. FOLFIRINOX es una combinación de cuatro agentes de quimioterapia: fluorouracilo[5-FU], leucovorina, irinotecán y oxaliplatino. En algunos aspectos, FOLFIRINOX se administra de la siguiente manera: oxaliplatino, 85 mg/m²; irinotecán, 180 mg/m²; leucovorina, 400 mg/m²; y fluorouracilo, 400 mg/m² administrados como un bolo seguido de 2400 mg/m² administrados como una infusión continua de 46 horas, cada 2 semanas. La terapia adyuvante anti-huLRRC15 ADC/FOLFIRINOX se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

15 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como complemento de Onivyde® para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Onivyde® es una formulación liposomal de irinotecán. En algunos aspectos, Onivyde® se administra a 70 mg/m² por infusión intravenosa durante 90 minutos cada 2 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/Onivyde® continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

25 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de Onivyde®, fluorouracilo y leucovorina para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Onivyde® es una formulación liposomal de irinotecán. En algunos aspectos, Onivyde® se administra a 70 mg/m² por infusión intravenosa durante 90 minutos cada 2 semanas, con leucovorina 400 mg/m² y fluorouracilo 2400 mg/m² durante 46 horas cada 2 semanas. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/Onivyde®/leucovorin/fluorouracilo continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

35 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 complementario al nivolumab (OPDIVO®) para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Nivolumab se administra como una infusión intravenosa a 3 mg/kg durante 60 minutos cada dos semanas. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/nivolumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

40 En otro aspecto ilustrativo adicional, se puede usar un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de pembrolizumab (KEYTRUDA®) para tratar el cáncer de páncreas. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Pembrolizumab se administra como una infusión intravenosa a 2 mg/kg durante 30 minutos cada 3 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/pembrolizumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

50 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como complemento de TARCEVA® (erlotinib) para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis recomendada y el esquema de erlotinib es de 150 mg por vía oral, una vez al día. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/erlotinib se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

60 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de IRESSA® (gefitinib) para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis y el calendario recomendados para gefitinib es de 250 mg por vía oral, una vez al día. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/gefitinib se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

65 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de afatinib para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14

días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis y el calendario recomendados para afatinib es de 40 mg por vía oral, una vez al día. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/afatinib se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de OPDIVO® (nivolumab) para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Nivolumab se administra como una infusión intravenosa a 3 mg/kg durante 60 minutos cada dos semanas. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/nivolumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como complemento de OPDIVO® (nivolumab) y YERVOY® (ipilimumab) para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg or 6,0 mg/kg para cuatro dosis con ipilimumab, luego cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg, sin ipilimumab. Nivolumab se administra como una infusión intravenosa a 3 mg/kg durante 60 minutos cada dos semanas. Ipilimumab se administra por vía intravenosa a 3 mg/kg durante 90 minutos cada tres semanas en las primeras cuatro dosis. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/nivolumab/ipilimumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se puede usar un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de pembrolizumab (KEYTRUDA®) para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,4 mg/kg o 6,0 mg/kg. Pembrolizumab se administra como una infusión intravenosa a 2 mg/kg durante 30 minutos cada 3 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC y pembrolizumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante del cisplatino para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. El cisplatino se administra a 20 mg/m² o más, una vez cada 3 a 4 semanas. La terapia adyuvante anti-huLRRC15 ADC/cisplatino se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante del carboplatino para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. El carboplatino se administra a 300 mg/m² o más, una vez cada 4 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/carboplatino se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de veliparib para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Veliparib se administra por vía oral, dos veces al día. La terapia adyuvante anti-huLRRC15 ADC/veliparib continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de veliparib y pemetrexed para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Veliparib se administra por vía oral, dos veces al día. Pemetrexed se administra a 500 mg/m² por vía intravenosa cada 21 días. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/veliparib/pemetrexed se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de cetuximab para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Cetuximab se administra a una dosis inicial

de 400 mg/m² durante una infusión intravenosa de 120 minutos, seguida de una infusión semanal de 250 mg/m² durante 60 minutos. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/cetuximab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o el paciente ya no lo tolera.

5 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de ipilimumab (YERVOY®) para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,4 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,6 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,4 mg/kg o 6,0 mg/kg. Ipilimumab se administra a 3 mg/kg por vía intravenosa durante 90 minutos cada 3 semanas durante 3 meses. La terapia con ADC anti-huLRRC15 continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

15 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 adyuvante a la radiación para tratar el NSCLC. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Por lo general, la radioterapia de haz externo se aplica durante unos minutos hasta 5 días a la semana durante 5 a 7 semanas, pero esto variará en dependencia del tipo de radioterapia de haz externo que se use. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/radioterapia se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

20 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de doxorubicina para tratar el cáncer de mama. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Cuando se usa de forma complementaria con otros fármacos, la dosis más utilizada de doxorubicina es de 40 a 60 mg/m² administrada como una inyección intravenosa única cada 21 a 28 días. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/doxorubicina se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

30 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de gemcitabina para tratar el cáncer de mama. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La gemcitabina se administra por infusión intravenosa a una dosis de 1000 mg/m² durante 30 minutos una vez por semana durante hasta 7 semanas (o hasta que la toxicidad se reduzca o mantenga una dosis), seguido de una semana de descanso del tratamiento. Los ciclos posteriores deben consistir en infusiones una vez por semana durante 3 semanas consecutivas de cada 4 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/gemcitabina se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

40 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como complemento de trastuzumab (HERCEPTIN®) para tratar el cáncer de mama. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. La dosis de carga inicial recomendada para trastuzumab es de 4 mg/kg administrada como una infusión durante 90 minutos. La dosis de mantenimiento semanal recomendada para trastuzumab es de 2 mg/kg, que puede administrarse como una infusión de 30 minutos si la dosis de carga inicial fue bien tolerada. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/trastuzumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o el paciente ya no lo tolera.

50 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de la capecitabina (XELODA®) para tratar el cáncer de mama. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Capecitabina se puede administrar a 1250 mg/m² dos veces al día durante 2 semanas seguido de un período de descanso de una semana en ciclos de 3 semanas. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/capecitabina se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

55 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de nivolumab (OPDIVO®) para tratar el cáncer de mama. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Nivolumab se administra como una infusión intravenosa a 3 mg/kg durante 60 minutos cada dos semanas. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/nivolumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

65 En otro aspecto ilustrativo adicional, se puede usar un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de pembrolizumab (KEYTRUDA®) para tratar el cáncer de mama. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg,

3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Pembrolizumab se administra como una infusión intravenosa a 2 mg/kg durante 30 minutos cada 3 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/pembrolizumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

5 En otro aspecto ilustrativo adicional, un ADC anti-huLRRC15 se usa de forma complementaria a la radiación para tratar el cáncer de cabeza y cuello. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Por lo general, la radioterapia de haz externo se aplica durante unos minutos hasta 5 días a la semana durante 5 a 7 semanas, pero esto variará en dependencia del tipo de radioterapia de haz externo que se use. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/radioterapia se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

15 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de cetuximab para tratar el cáncer de cabeza y cuello. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Cetuximab se administra a una dosis inicial de 400 mg/m² durante una infusión intravenosa de 120 minutos, seguida de una infusión semanal de 250 mg/m² durante 60 minutos. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/cetuximab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o el paciente ya no lo tolera.

25 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante del carboplatino para tratar el cáncer de cabeza y cuello. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. El carboplatino se administra a 300 mg/m² o más, una vez cada 4 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/carboplatino se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

30 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante de nivolumab (OPDIVO®) para tratar el cáncer de cabeza y cuello. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Nivolumab se administra como una infusión intravenosa a 3 mg/kg durante 60 minutos cada dos semanas. El tratamiento complementario anti-huLRRC15 ADC/nivolumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerado por el paciente.

40 En otro aspecto ilustrativo adicional, un ADC anti-huLRRC15 puede usarse como adyuvante de pembrolizumab (KEYTRUDA®) para tratar el cáncer de cabeza y cuello. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 21 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. Pembrolizumab se administra como una infusión intravenosa a 2 mg/kg durante 30 minutos cada 3 semanas. La terapia complementaria anti-huLRRC15 ADC/pembrolizumab se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

45 En otro aspecto ilustrativo adicional, se usa un ADC anti-huLRRC15 como adyuvante del cisplatino para tratar el cáncer de cabeza y cuello. El ADC anti-huLRRC15 se administra por infusión IV una vez cada 14 días a 0,3 mg/kg, 0,6 mg/kg, 0,9 mg/kg, 1,2 mg/kg, 1,5 mg/kg, 1,8 mg/kg, 2,1 mg/kg, 2,4 mg/kg, 2,7 mg/kg, 3,0 mg/kg, 3,3 mg/kg, 3,6 mg/kg, 3,9 mg/kg, 4,2 mg/kg, 4,5 mg/kg, 4,8 mg/kg, 5,1 mg/kg, 5,4 mg/kg, 5,7 mg/kg o 6,0 mg/kg. El cisplatino se administra como una infusión intravenosa a 100 mg/kg cada 3 semanas. La terapia adyuvante anti-huLRRC15 ADC/cisplatino se continúa hasta que ocurre la progresión de la enfermedad o ya no es tolerada por el paciente.

55 Como apreciarán los expertos en la materia, las dosis recomendadas para los diversos agentes descritos anteriormente pueden necesitar ajustarse para optimizar la respuesta del paciente y maximizar el beneficio terapéutico.

8. Ejemplos

Los siguientes ejemplos, que destacan ciertas características y propiedades de modalidades ilustrativas de ADC anti-huLRRC15 se proporcionan con fines ilustrativos, y no limitativos.

Ejemplo 1. Preparación de anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos

Los anticuerpos anti huLRRC15 se prepararon mediante una línea celular que expresaba huLRRC15 (células de glioblastoma U118MG) usando técnicas estándares. Se aislaron anticuerpos ilustrativos que tienen afinidades específicas y otras características convenientes, por ejemplo, reactividad cruzada con LRRC15 cinomolgo ("cinoLRRC15"), y algunos de estos anticuerpos se humanizaron. Los anticuerpos humanizados ilustrativos incluyen

huM25, huAD208.4.1, huAD208.12.1, huAD208.14.1, hu139.1 y los anticuerpos murinos ilustrativos incluyen muAD209.9.1 y muAD210.40.9. Las secuencias de las cadenas V_H y V_L de estos anticuerpos ilustrativos se proporcionan en las Figuras 2A y 2B, respectivamente. Las secuencias de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo ilustrativo huM25 se proporcionan en las Figuras 3A y 3B, respectivamente. La cadena pesada codificada de huM25 es la SEQ ID NO: 18, y puede ser trucada en el extremo C al expresar en células CHO la SEQ ID NO: 102, siendo la cadena ligera de huM25 codificada por la SEQ ID NO: 19.

La unión de estos anticuerpos ilustrativos a huLRRC15 endógeno, así como sus respectivas CE_{50} , se demostró con células de glioblastoma U118MG mediante un ensayo de citometría de flujo convencional usando concentraciones de anticuerpos de prueba de 0,0001 $\mu\text{g/mL}$, 0,001 $\mu\text{g/mL}$, 0,01 $\mu\text{g/mL}$, 0,1 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ y 100 $\mu\text{g/mL}$. Los anticuerpos de control de isotipo (ratón o humano) se usaron según el caso apropiado. Los datos de unión obtenidos por citometría de flujo para diversos anticuerpos anti-huLRRC15 representativos se muestran en la Figura 4. La TABLA 7 proporciona valores de CE_{50} (nM) para varios anticuerpos anti-huLRRC15 según lo determinado por citometría de flujo.

Anticuerpo	U118MG EC₅₀ (nM)	Anticuerpo	U118MG EC₅₀ (nM)
mAb Isotipo mulgG _{2a}		mAb Isotipo hulgG ₁	NA
muM25	0,496	huM25	0,498
mu139.10	0,207	hu139.10	0,28
muAD208.4.1	0,934	huAD208.4.1	0,29
muAD208.14.1	2,05	huAD208.14.1	5,25
muAD209.9.1	0,787		
muAD210.40.9	0,08		

Ejemplo 2. Los anticuerpos anti-huLRRC15 se unen al segmento del dominio extracelular de huLRRC15 de la superficie celular

La unión del anti-huLRRC15 ilustrativo a la porción del dominio extracelular de huLRRC15 liberado de la superficie celular se demostró en un ensayo ELISA. La proteína de fusión huLRRC15-Fc se generó usando los residuos de aminoácidos 22 a 526 de la SEQ ID NO: 3, que corresponde a una porción del dominio extracelular de la proteína huLRRC15 hasta el sitio de escisión. Se revistieron placas Immulon 4HBX de 96 pocillos (Thermo, cat. #3855) con 100 μL /pocillo de esta proteína de fusión de EDC huLRRC15 a 2 $\mu\text{g/ml}$ en tampón de carbonato-bicarbonato (Thermo, cat.#28382) pH 9,4 y se dejaron incubando durante toda la noche a 4 °C. Las placas se lavaron tres veces con PBST y luego se incubaron con diversas concentraciones de anticuerpos en PBST + BSA 0,3 % a temperatura ambiente durante una hora. Las placas se lavaron tres veces con PBST y luego se incubaron con 100 μL de anti-cadena ligera kappa de humano HRP de cabra (Bethyl, cat.# A80-115P) a una dilución 1:5000 durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las placas se lavaron tres veces en PBST y se añadieron 100 μL de TMB (Surmodics BioFx cat.# TMBW-1000-01) a cada pocillo y se incubaron a temperatura ambiente hasta que apareció el color (aproximadamente 10 minutos). Las reacciones se detuvieron mediante la adición de un reactivo de parada de 650 nm para TMB (Surmodics BioFx, cat.# BSTP-0100-01), y se leyó la densidad óptica (OD) a 650 nm (Molecular Devices Versamax PLUS). Los datos de unión de ELISA para ciertos anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos se muestran en la Figura 5. Los valores de CE_{50} para diversos anticuerpos anti-huLRRC15 se proporcionan en la TABLA 8, a continuación.

Todos los anticuerpos ensayados se unieron a la fusión huLRRC15 con EC_{50} en el rango subnanomolar, lo que indica que los anticuerpos se unen a la porción del dominio extracelular de huLRRC15 escindido de la superficie celular después de la ruptura.

TABLA 8
Unión de anticuerpos a ECD de huLRRC15 (ELISA)

Anticuerpo	huLRRC15-ECD-Fc EC ₅₀ (nM)	Anticuerpo	huLRRC15-ECD-Fc EC ₅₀ (nM)
mAb Isotipo mulgG _{2a}	NA	mAb Isotipo hulgG ₁	NA
muM25	0,22	huM25	0,26
mu139.10	0,15	hu139.10	0,11
muAD208.4.1	0,15	huAD208.4.1	0,25
muAD208.14.1	0,22	huAD208.14.1	0,8
muAD209.9.1	0,14		

Ejemplo 3. Los anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos se unen a diferentes epítomos

La capacidad de varios anticuerpos anti-huLRRC15 ilustrativos para competir con muM25 por la unión a células que expresan huLRRC15 y, por lo tanto, si los anticuerpos se unen a los mismos o diferentes epítomos, se evaluó en un ensayo de competencia de citometría de flujo usando muM25 marcado con fluorescencia ("muM25-AF488") como un "anticuerpo de referencia" y un anticuerpo anti-huLRRC15 sin marcar como un "anticuerpo de prueba". Para el ensayo, se incubaron alícuotas de células U118MG (200,000 células por pocillo) simultáneamente con muM25 marcado con 1 µg/mL y con anticuerpo de prueba sin marcar de 0,0001, 0,001, 0,01, 0,1, 1, 10 o 100 µg/mL y la cantidad de unión anticuerpo (normalizado a una alícuota de control incubada con muM25 marcado con 1 µg/ml solo) determinado mediante citometría de flujo. Los anticuerpos de control de isotipo (humanos o de ratón) se usaron como controles negativos, y muM25 sin marcar se usó como control positivo.

En este ensayo, la competencia debido a un anticuerpo de prueba que se une al mismo o a un epítomo proximal como el anticuerpo de referencia marcado reduce la unión del anticuerpo de referencia marcado. Un resultado positivo en este ensayo ocurre cuando un anticuerpo de prueba inhibe ≥ 20 % de la unión del anticuerpo de referencia marcado con fluorescencia a una concentración de anticuerpo de prueba que es 10 veces mayor que la concentración del anticuerpo de referencia.

HuM25 no marcado compite completamente con muM25 marcado como se esperaba (Figura 6A). Los anticuerpos murinos muAD208.4.1 y muAD208.14.1 compiten parcialmente con huM25 (Figura 6B). Ambos anticuerpos inhiben >20 % de la unión de muM25 marcado. Esto indica que se unen a un epítomo huLRRC15 similar o proximal al muM25. Por el contrario, mu139.10, muAD208.12.1 y muAD209.9.1 no inhiben la unión de muM25 marcado, lo que demuestra que se unen a distintos epítomos de huLRRC15 (Figura 6B).

Ejemplo 4. huLRRC15 se expresa altamente en el estroma de los principales tipos de tumor sólido

La expresión de huLRRC15 en el estroma de varios tipos de tumores sólidos se evaluó mediante tinción inmunohistoquímica (IHC) en tejidos embebidos en parafina fijados con formalina (FFPE). Se usaron biopsias de diferentes tipos de tumores para generar microarreglos de tejido (TMA) que se evaluaron para la expresión de huLRRC15. Se cortaron secciones de tejido (4 µm), se desparafinaron y se realizó la recuperación de antígeno usando tampón de recuperación de antígeno BORG Decloaker a 125 °C durante 1 minuto. Se usó *Leica autostainer* para bloquear los portaobjetos e incubar con anticuerpo anti-huLRRC15 (muAD210.40.9 a 1 µg/ml durante 60 minutos) y HRP anti-ratón secundario (Dako) junto con reactivo DAB (Dako) para la detección. Los resultados del experimento se muestran en la TABLA 9 y la Figura 7.

Las muestras de TMA se puntuaron en una escala de 0 a 4. Se eligió una puntuación de ≥ 2 para identificar tumores que expresan huLRRC15 a niveles altos. Los datos de tinción y expresión de huLRRC15 en la TABLA 9 representan los observados en tumores estroma positivo y cáncer negativo para huLRRC15 (Figura 7).

Varios cánceres, como el cáncer de mama (ductal y lobular, así como triple negativo) y el cáncer de cabeza y cuello, mostraron una expresión uniformemente fuerte de huLRRC15 en el estroma tumoral, lo que sugiere que podría desarrollarse un régimen de tratamiento ampliamente aplicable dirigiéndose a huLRRC15 en esos cánceres. Otros tipos de cánceres que mostraron expresión positiva de huLRRC15 en algunas, pero no en todas, las muestras de estroma tumoral incluyeron cánceres de pulmón (como los cánceres de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), por ejemplo, adenocarcinoma y NSCLC escamoso), cánceres pancreáticos, cánceres de vejiga, carcinomas hepatocelulares, cánceres colorrectales, cánceres de ovario, linfoma no Hodgkin (NHL) (como linfoma de células del manto, linfoma folicular, linfoma difuso de células B grandes y otros linfomas), cánceres testiculares, cánceres gástricos, cánceres endometriales y cánceres renales. Los cánceres de próstata no mostraron expresión positiva de huLRRC15 en muestras de estroma ensayadas (0/25 muestras).

TABLA 9
Expresión positiva de huLRRC15 en el estroma del cáncer (detectado por inmunohistoquímica)

Tipo de tumor	Puntuación IHC (expresión en el estroma)		
	(TMA + tejidos individuales)		
	> 2+	% Positivo	
Mamas	Ductal + Lobular	72/76	95
	Triple negativo	10/11	91
Pulmón	NSCLC - Adeno	63/87	72
	NSCLC - Escamoso	74/115	64
Cabeza y cuello (incluyendo Metástasis)		47/53	89
Pancreático		27/41	66
Vejiga		17/30	57
Hepatocelular		8/16	50
Colorrectal		19/43	44
Ovárico		18/8	44
Total		22/51	43
Linfoma de células del manto		4/5	80
NHL	Linfoma folicular	15/9	60
	Difuso de células B grandes	3/6	50
Otros NHL		25/6	25
Testicular		11/35	31
Gástrico		23/2	9
Endometrial		2/30	7
Renal		1/30	3
Próstata		0/25	0

Ejemplo 5. huLRRC15 exhibe una expresión limitada en tejidos normales

La expresión de huLRRC15 en tejidos normales y sanos se evaluó mediante el uso de tinción inmunohistoquímica de proteínas de tejidos normales. Los resultados se muestran en la Figura 8. huLRRC15 tiene una expresión limitada en la mayoría de los tejidos normales, y la expresión se localiza en ciertos tejidos, incluyendo cardias/píloros en el estómago, peritrabeculados del bazo, osteoblastos y folículos pilosos ("ECM" se refiere a la matriz extracelular). También se observó una expresión limitada en amígdalas y placenta (datos no mostrados). No se observó expresión de huLRRC15 en los órganos principales (por ejemplo, corazón, hígado, páncreas, pulmón).

Ejemplo 6. El huLRRC15 se expresa en células madre mesenquimales

La expresión de huLRRC15 se midió mediante análisis de proteínas por transferencia Western de células fibroblastos asociados al cáncer (CAF) que se originan de un paciente con cáncer de mama, o lisados comerciales de células madre mesenquimatosas (MSC) que usan el anticuerpo anti-huLRRC15 biotinilado muAD210.40.9 como se muestra en la Figura 9A. Se observó que huLRRC15 se reguló a la alta en una muestra de lisado de CAF de mama después del tratamiento con TGF β mostrando una baja expresión detectable o insignificante en ausencia de TGF β . Por el contrario, la expresión de huLRRC15 fue mayor en ausencia de TGF β en las tres muestras de lisado de MSC, y esta expresión se reguló significativamente a la alta con el tratamiento con TGF β . Como se discutió anteriormente, se cree que las MSC constituyen un componente significativo de la población de fibroblastos asociada al cáncer en el estroma tumoral (Cirri, P y Chiarugi P. American Journal of Cancer Research 2011; 1 (4): 482-497).

Se observó una similar regulación a la alta en la expresión de huLRRC15 por citometría de flujo de dos poblaciones de células madre mesenquimatosas comerciales después del tratamiento con TGF β (Figuras 9B, 9C). En BM-MSC

humano (Lonza), usando CD29, CD44, CD105, CD166 como marcadores positivos de MSC y CD14, CD34 y CD45 como marcadores negativos de MSC, se observó un cambio positivo significativo en la población de MSC que expresa huLRRC15 después del tratamiento con TGFβ en comparación con el isotipo (Figura 9B). De manera correspondiente, en Balb/c BM-MSC (Cyagen) murino, usando CD29, CD44, CD34 y Sca-1 como marcadores positivos de MSC y CD117 como marcador negativo de MSC, se observó un aumento significativo en la población de MSC que expresa muLRRC15 durante el tratamiento con TGFβ en comparación con el isotipo (Figura 9C).

Ejemplo 7. huLRRC15 está asociado con células que experimentan la transición epitelial-mesenquimatosa

La transición epitelial-mesenquimatosa (EMT) es un mecanismo celular que se cree que confiere plasticidad celular a las células cancerosas. Se cree que esta transición a un fenotipo más mesenquimatoso aumenta la motilidad y la invasividad de una célula cancerosa primaria, lo que puede conducir a metástasis de cáncer, resistencia a los fármacos o evasión del sistema inmune. Véase, por ejemplo, Ye, X. y Weinberg, RA Trends in Cell Biology, 2015, 25 (11), páginas 675-686. Los datos proporcionados en este ejemplo demuestran que las células cancerosas sometidas a EMT tenían una mayor expresión de huLRRC15 en relación con sus células cancerosas epitelial parental.

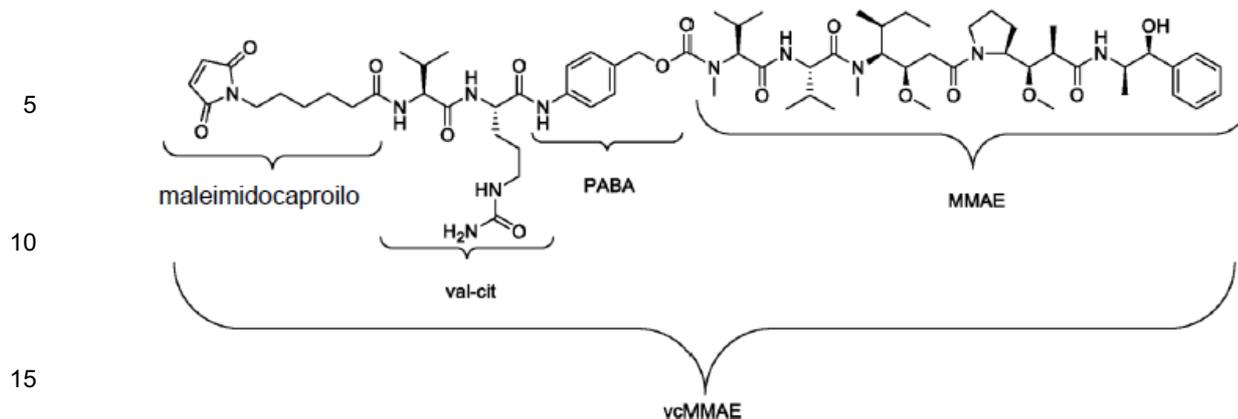
La Figura 10 representa el efecto según lo determinado por el análisis de transferencia Western de tratar células A549 negativas basales (cáncer de pulmón) o PANC1 (cáncer de páncreas) con TGFβ o con Suplemento de Medios StemXVivo™ de inducción de EMT ("estuche EMT", Catálogo #CCM017, R&D Systems) para inducir EMT. Las proteínas reconocidas como características de EMT, incluyendo N-cadherina, Snail, TCF8/ZEB1, aumentaron su expresión y proteínas indicativas de las características de las células epiteliales, como E-cadherina disminuyeron su expresión. La expresión de la proteína de mantenimiento y control de carga de proteínas GAPDH no cambió significativamente. Se observó que la expresión de huLRRC15 (medida con el anticuerpo anti-LRRC15 muAD210.40.9) aumentó en las células A549 y PANC1 tratadas con el TGFβ o el estuche EMT, y que posteriormente desarrollaron EMT.

Las Figuras 11A-11C muestran que la expresión de huLRRC15 aumentó en las células que llevan a cabo EMT, con el proceso inverso de transición mesenquimal-epitelial (MET) que ocurre con la eliminación de los inductores de EMT. La Figura 11A muestra células A549 o PANC1 sin tratar, o tratadas con TGFβ o el estuche EMT durante 5 días. En las células A549 o PANC1, la expresión de EpCAM, que indica el carácter de tipo epitelial, fue más alta en las células no tratadas. Después del tratamiento con TGFβ o el estuche EMT, se indujo huLRRC15 (medido con huM25 marcado con AF647) en ambos tipos de células, mientras que se redujo el marcador epitelial EpCAM, lo que sugiere una transición a un fenotipo más mesenquimatoso (huLRRC15 positivo). La Figura 11B representa la morfología de las células A549 tratadas con TGFβ (10 ng/ml continuamente durante 9 días) (arriba a la izquierda), que muestra células alargadas con procesos similares a fibróticos que parecen de tipo mesenquimatoso, mientras que las células A549 tratadas con TGFβ (10 ng/ml continuamente durante 5 días) y luego lavadas para eliminar el TGFβ ya no exhibieron la morfología de las células mesenquimales después de 4 días adicionales (9 días en total correspondientes) (abajo a la izquierda). Por lo tanto, la EMT inducida por TGFβ fue reversible tras su eliminación. La inducción de EMT por TGFβ y la reversión de las propiedades de tipo mesenquimatoso también se observó por citometría de flujo (Figura 11B). Se observó un aumento en la expresión de huLRRC15 (que indica más características de tipo mesenquimatoso) (parte superior media) y una disminución en la expresión de EpCAM (que indica menos características de tipo epitelial) (parte superior derecha) después del tratamiento con TGFβ o el estuche EMT. Después de la interrupción del tratamiento con TGFβ o el estuche EMT, los niveles de huLRRC15 volvieron a los observados al inicio (gráficos más abajo).

La Figura 11C representa el aumento en el carácter mesenquimatoso, y la disminución correspondiente en el carácter epitelial, de las células tratadas con TGFβ, como lo indican los niveles de huLRRC15 (gráficos superiores) y EpCAM (gráficos inferiores) en las células A549 (gráficos a la izquierda) o PANC1 (gráficos a la derecha) *in vitro*. En las células A549 y PANC1, la expresión de huLRRC15 aumentó con el tratamiento de las células con TGFβ o el estuche EMT durante 9 días, mientras que la expresión de EpCAM, un indicador del carácter epitelial, disminuyó. De acuerdo con los datos de morfología celular en la Figura 11B, la expresión proteica de huLRRC15 y EpCAM indicó que las células mesenquimatosas positivas para huLRRC15 volvieron a un estado similar al epitelio después de la eliminación del TGFβ o el estuche EMT, y su cultivo celular durante 4 días adicionales.

Ejemplo 8. Preparación de ADC huM25-vcMMAE heterogéneos en DAR

Se preparó una composición de ADC huM25-val-cit-MMAE heterogénea en DAR mediante un proceso químico de dos etapas: reducción de disulfuro de huM25 seguido de alquilación (conjugación) con maleimidocaproil valina ("val-cit") alcohol paraaminobencílico ("PABA") monometil auristatina E (denominada en la presente descripción "vcMMAE"), como se ilustra a continuación:



20 En la primera etapa, un número limitado de enlaces disulfuro intercadena del huM25 se reduce con tris(2-carboxietil)fosfina ("TCEP") ($\geq 0,8$ equiv). El huM25 parcialmente reducido se conjuga luego a vcMMAE ($\geq 1,8$ equiv) en DMSO. El vcMMAE residual sin reaccionar se inhibe con N-acetil-L-cisteína.

25 El panel superior de la Figura 12 muestra una resolución cromatográfica de la preparación del ADC resultante. Como se puede ver, la preparación de ADC resultante es una mezcla heterogénea que contiene anticuerpos que tienen cero moléculas de MMAE unidas (pico "DAR0"), dos moléculas de MMAE unidas (pico "DAR2"), cuatro moléculas de MMAE unidas (pico "DAR4"), seis moléculas MMAE unidas (pico "DAR6") y ocho moléculas MMAE unidas (pico "DAR8") y tiene un DAR promedio de 4. Usando huM25 como ejemplo, las preparaciones específicas de ADC que comprenden mezclas heterogéneas que tienen un DAR promedio de 4 se designan en la presente descripción con "DAR4", por ejemplo, huM25-vcMMAE-DAR4.

30 Ejemplo 9. Preparación de ADC huM25-vcMMAE enriquecidos en DAR2

35 Las preparaciones de los ADC huM25-vcMMAE enriquecidos en DAR2 (denominado en la presente descripción "huM25-vcMMAE-E2") se obtuvieron mediante resolución cromatográfica de interacción hidrofóbica ("HIC") de la composición heterogénea de ADC DAR del Ejemplo 8. Hamblett y otros, 2004, Clin Cancer Res 10: 7063-7070, describen métodos generales para separar mezclas heterogéneas de ADC y aislar especies homogéneas específicas, como los picos DAR2 y DAR4 a través de HIC.

40 Un cromatograma de la preparación de ADC huM25-vcMMAE E2 enriquecida se muestra en el panel inferior de la Figura 12. La preparación es aproximadamente 98 % pura en el ADC DAR2. Usando huM25 como ejemplo, las preparaciones específicas de ADC enriquecidas en DAR2 se designan en la presente descripción con "E2", por ejemplo, huM25-vcMMAE-E2.

45 Para la preparación de huM25-vcMMAE-E2, el material de ADC heterogéneo en DAR como se describe en el Ejemplo 8 se ajustó a las condiciones de salinidad para la unión a la columna mediante la adición de 1/3 de volumen de 4,5M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ para dar 110 mS conductividad. Este material de carga se bombeó en una columna de 2,6 x 150 cm empaquetada con 70 ml de resina GE Butil Sefarosa-HP y se equilibró con Tampón A [1,5M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, fosfato de sodio 20 mM, pH 7], usando un Sistema de cromatografía líquida GE ÄKT Aprime plus. Después de cargar y lavar hasta la línea base, el anticuerpo no conjugado huM25 ("DAR0") se eluyó con una mezcla de gradiente escalonado de tampones A y B a 90 mS (tampón B = fosfato de sodio 20 mM, pH 7 + 25 % de isopropanol) (tiempo de retención = 3 min). A continuación, se preparó el huM25-vcMMAE-E2 mediante elución con una mezcla de gradiente escalonado de tampones A y B a 60 mS (tiempo de retención = 4 min). El conjunto eluido de material enriquecido en huM25-vcMMAE-DAR2 se intercambió con tampón y se concentró en un sistema de filtración de flujo tangencial Pellicon® (membrana XL-30kD) usando tampón MES 15 mmpH 6,0 para proporcionar la preparación E2. Las preparaciones de "E4" (preparación enriquecida de huM25-vcMMAE que contiene 4 moléculas de MMAE) y "E6" (preparación enriquecida de huM25-vcMMAE que contiene 6 moléculas de MMAE) y "E8" (preparación enriquecida de huM25-vcMMAE que contiene 8 moléculas de MMAE) pueden también aislarse con este gradiente. El material final se cuantificó mediante absorbancia a 280 nm, se evaluó la pureza mediante HIC y se evaluó la agregación mediante cromatografía de exclusión por tamaño ("SEC").

60 Ejemplo 10. El ADC huM25-vcMMAE-E2 tiene una eficacia potencial contra los tumores LRRC15 estroma(+)/cáncer (-).

65 La potente actividad antitumoral de un ADC anti-huLRRC15 ilustrativo, huM25-vcMMAE-E2, contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) se demostró en un modelo de xenoinjerto con células EBC-1 (NSCLC escamosas de humano). Para los experimentos, se inocularon por vía subcutánea cinco millones de células (EBC-1) que crecieron

in vitro por ratón en el lado derecho de ratones hembra SCID-Beige. El tamaño de los tumores fue de ~200 mm³, y se dosificaron por vía intraperitoneal (IP) Q4Dx6 (1 dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis) como se muestra en la Figura 13A. Las mediciones de la longitud (L) y el ancho (W) se tomaron de los tumores a través de calibrador electrónico y el volumen se calculó según la siguiente ecuación: $V = L \times W^2/2$. En ratones tratados con 6 mg/kg, se observó una inhibición máxima del crecimiento tumoral (TGI_{máx.}) del 97 % y un retraso del crecimiento tumoral (TGD) del 305 % para el tratamiento con huM25-vcMMAE-E2, que mejoró significativamente ($p < 0,001$) en comparación al tratamiento con el anticuerpo control de isotipo o el conjugado de control de isotipo correspondiente administrado en el mismo régimen (Figura 13A).

Otros ADC ilustrativos anti-huLRRC15, huAD208.4.1-vcMMAE-DAR4, huAD208.14.1-vcMMAE-DAR4 y huM25-vcMMAE-DAR4 también están activos en este modelo de xenoinjerto EBC-1. Para este experimento, los tumores se ajustaron a un tamaño de ~200 mm³ y se dosificaron por vía intraperitoneal (IP) Q7Dx2 (1 dosis administrada cada 7 días para un total de 2 dosis) como se muestra en la Figura 13C. En ratones tratados con 3 mg/kg, huAD208.4.1-vcMMAE-DAR4, huAD208.14.1-vcMMAE-DAR4 y huM25-vcMMAE-DAR4 exhibieron valores TGI_{máx.} del 90 %, 84 % y 88 %, respectivamente. Se observaron retrasos en el crecimiento tumoral de 129 %, 114 % y 129 % para huAD208.4.1-vcMMAE-DAR4, huAD208.14.1-vcMMAE-DAR4 y huM25-vcMMAE-DAR4 respectivamente, que mejoró significativamente ($p < 0,001$) en comparación con el tratamiento con anticuerpo de control de isotipo o el conjugado de control de isotipo correspondiente administrado en el mismo régimen (Figura 13C).

La potente actividad antitumoral de huM25-vcMMAE-E2 también se demostró en un modelo de xenoinjerto con células HPAF-II (pancreáticas humanas). Para el experimento, se inocularon por vía subcutánea 1 millón de células (HPAF-II) que crecieron *in vitro* por ratón en el lado derecho de ratones hembra SCID-Beige. El tamaño de los tumores fue de ~200 mm³, y se dosificaron por vía intraperitoneal (IP) Q4Dx6 (1 dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis) como se muestra en la Figura 13B. En ratones tratados con 6 mg/kg, se observó un TGI_{máx.} del 76 % y un retraso en el crecimiento tumoral del 133 %, que mejoró significativamente ($p < 0,001$) en comparación con el tratamiento con el anticuerpo de control de isotipo o el conjugado de control de isotipo correspondiente administrado en el mismo régimen (Figura 13B).

El anti-huLRRC15 ADC huM25-vcMMAE-E2 muestra una potente actividad antitumoral en diferentes modelos tumorales (Figuras 13A, 13B). Se observó eficacia antitumoral para varios ADC anti-huLRRC15 (Figura 13C). Las eficacias de huAD208.4.1-vcMMAE-DAR4, huAD208.14.1-vcMMAE-DAR4 y huM25-vcMMAE-DAR4 fueron similares en magnitud (TGI_{máx.}) y duración (TGD) cuando se dosificaron a 3 mg/kg en tumores EBC1 (Figura 13C). Las eficacias mejoraron significativamente ($p < 0,001$) en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control de isotipo o un conjugado de control de isotipo correspondiente administrado en el mismo régimen.

No se observó actividad antitumoral con huM25-vcMMAE-DAR4 en el modelo de xenoinjerto HCC-827-ER (NSCLC), aunque se observó una expresión robusta de huLRRC15 mediante IHC (puntuación 3+). En este experimento, se inocularon por vía subcutánea 2 millones de células (HCC-827-ER) que crecieron *in vitro* por ratón en el lado derecho de ratones hembra SCID-Beige. El tamaño de los tumores fue de ~200 mm³, y se dosificó por vía intraperitoneal (IP) Q4Dx6 (1 dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), y no se observó actividad antitumoral significativa (Figura 13D).

Ejemplo 11. Los ADC anti-huLRRC15 son activos contra tumores grandes que vuelven a crecer después de rondas de tratamiento anteriores

Para demostrar que los tumores que vuelven a crecer después del tratamiento con ADC anti-huLRRC15 son sensibles a los ADC anti-huLRRC15, los tumores se trataron con un ADC anti-huLRRC15, se les permitió volver a crecer y se volvieron a tratar. Para el experimento, las células cancerosas de mama humano SUM190PT (desarrolladas a partir de un tumor primario de cáncer de mama ER negativo y PR negativo humano) se cultivaron hasta el pase tres *in vitro*. Se inocularon subcutáneamente cinco millones de células por ratón en el lado derecho de ratones SCID hembra. Los tumores tenían un tamaño equivalente a ~250 mm³, los anticuerpos y los inmunoconjugados se administraron IP Q4Dx4 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 4 dosis) a 10 o 3 mg/kg, respectivamente. En el día 70 después del emparejamiento por tamaño cuando los tumores habían vuelto a crecer hasta ~650 mm³, los animales se volvieron a tratar con huM25-vcMMAE-DAR4 IP Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis) a 6 mg/kg. Se extrajeron algunos tumores grandes en el momento del retratamiento para la evaluación inmunohistoquímica de la expresión de huLRRC15.

Los resultados se muestran en la Figura 14. Se observó una inhibición máxima del crecimiento tumoral (TGI_{máx.}) del 77 % para el tratamiento inicial con huM25-vcMMAE-DAR4, que fue significativamente ($p < 0,001$) mejor que el anticuerpo de control de isotipo o el conjugado de control de isotipo correspondiente administrado en el mismo régimen.

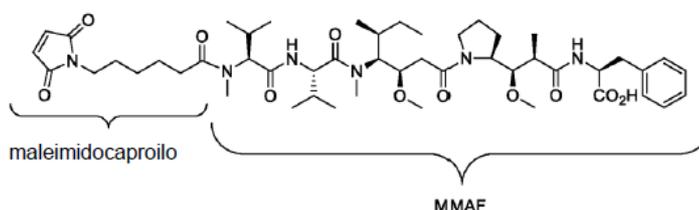
Tras el retratamiento después del crecimiento, se observó nuevamente la regresión del tumor, lo que indica que los tumores permanecieron sensibles a huM25-vcMMAE-DAR4, con un TGD global del 133 % ($p < 0,01$). La expresión de huLRRC15 se retuvo en estos tumores previamente tratados. Estos hallazgos sugieren que debido a que huLRRC15 se expresa en fibroblastos no cancerosos dentro del tumor, el antígeno huLRRC15 no está bajo la misma presión

selectiva genética que las células cancerosas, lo que permite que los tumores retengan la sensibilidad a los ADC anti-huLRRC15.

Ejemplo 12. Los ADC anti-huLRRC15 ejercen actividad anticancerígena contra los tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) al menos en parte a través del efecto de eliminación de células en la vecindad

El hecho de que los ADC anti-huLRRC15 que comprenden agentes citostáticos y/o citotóxicos permeables en las células efectúan la actividad antitumoral a través de un efecto de eliminación de células en la vecindad se demostró en xenoinjertos de cáncer escamoso de pulmón EBC-1 con dos ADC anti-huLRRC15: huM25-vcMMAE-E2 y huM25-mcMMAF-E2. MMAE es capaz de atravesar las membranas celulares. La estrechamente relacionada monometil auristatina F ("MMAF") no es capaz.

El ADC huM25-mcMMAF-E2 se preparó de manera análoga al protocolo descrito para huM25-vcMMAE-E2 en los Ejemplos 8 y 9. La estructura de la porción conector-fármaco mcMMAF es:



Para los experimentos, se implantaron 5 millones de células EBC-1 cultivadas *in vitro* por ratón en el lado derecho de ratones SCID-beige. Los tumores se emparejaron por tamaño a ~300 mm³ y se trataron el día 0 y el día 4 con 6 mg/kg por vía intraperitoneal para cada fármaco biológico que se muestra en la Figura 15A. Se obtuvieron tumores de los ratones en cada grupo 11 días después de la aleatorización y el inicio del tratamiento. Los tumores se disociaron en suspensiones de células individuales usando el disector Biotec gentleMACS de acuerdo con las indicaciones del fabricante para la disociación de tumores resistentes. Las células tumorales disociadas se pasaron a través de un filtro de 70 µm, se contaron e inmediatamente se usaron para citometría de flujo. Las suspensiones unicelulares se resuspendieron en PBS con 10 % de FBS y 10 µg/ml de bloque FcR (anti-ratón CD16/CD32, clon 93, eBioscience, Cat.#16-0161). Los siguientes anticuerpos conjugados directamente se usaron para citometría de flujo: control de isotipo IgG₁ κ humano (AB095) AF647, anti-huLRRC15 (hu208.4.1a.1a) AF647, anti-FAP (huFAP MAB5) AF647, anti-CD326 humano de ratón (EPCAM) PE (clon 1B7, eBioscience, Cat.#12-9326), anti-CD11b de ratón PE (clon M1/70, eBioscience, Cat.#12-0112), anti-CD11c de ratón PE (clon N418, eBioscience, Cat.#12-0114), y anti-F4/80 de ratón PE (clon BM9, eBioscience, Cat.#12-4801). Las suspensiones *ex vivo* de células tumorales EBC1 se incubaron con anticuerpos conjugados con flúor durante 20 minutos en hielo y se lavaron dos veces usando PBS con FBS al 1 %. Los datos de citometría de flujo se obtuvieron utilizando un FactCalibur Becton Dickinson, y los datos se analizaron utilizando el software de análisis FlowJo™ (TreeStar). Los datos de citometría de flujo *ex vivo* (Figuras 15B-15E) se muestran como un porcentaje de células intactas positivas para cada antígeno en relación con el total de células vivas intactas a través de FSC/SCC. Es importante señalar que los porcentajes informados son valores relativos al tumor EBC1 *ex vivo* total y que una reducción en una población celular (por ejemplo, células cancerosas positivas a EPCAM) daría como resultado un aumento inverso en las poblaciones celulares restantes cuando se usa este método de análisis.

Los datos mostrados en las Figuras 15B-15E demuestran que huM25-vcMMAE-E2 puede provocar la destrucción de células cancerosas de células cancerosas (por ejemplo, EBC-1) que no expresan el antígeno huLRRC15 al dirigir la administración del ADC a los fibroblastos asociados al cáncer huLRRC15 estromal positivos en la vecindad. Cuando los tumores se trataron con ADC dirigidos a huLRRC15 que contenían la porción MMAF no permeable en las células altamente relacionado de manera estructural, no hubo actividad antitumoral *in vivo*. La población de fibroblastos asociados al cáncer que se conoce que es positiva para huLRRC15 (Figura 7), no muestra una disminución en el porcentaje de fibroblastos encontrados dentro del tumor (Figura 15C). Por lo tanto, los fibroblastos actúan como células objetivo y de procesamiento para la porción MMAE, que tiene un efecto inhibitor del crecimiento más profundo en las células cancerosas que en los fibroblastos estromales que expresan huLRRC15. Se observó un aumento en el infiltrado inmune (células positivas para CD11c o F4/80) después del tratamiento (Figuras 15D-15E), lo que indica que este ADC aumenta la expresión de poblaciones de células inmunes específicas dentro del tumor (por ejemplo, células presentadoras de antígeno). El hallazgo de que los ADC anti-huLRRC15 *in vivo* (por ejemplo, HuM25-vcMMAE-E2) aumentan la expresión de poblaciones inmunes específicas dentro del tumor proporciona una justificación clara para combinar los ADC anti-huLRRC15 con terapias inmunodirigidas.

Las suspensiones disociadas de células individuales de los tumores EBC1 *ex vivo* mostradas en la Figura 15A se sembraron a 120,000 células vivas en portaobjetos de cámara de microscopía de cultivo de tejidos. Las células se dejaron sentar y se incubaron durante 48 horas, y luego se fijaron en paraformaldehído al 2 % durante 15 minutos a 37 °C. Las células se lavaron con PBS y se permeabilizaron usando Triton-X al 0,3 % en PBS a 37 °C durante 30

minutos. Las células se lavaron con PBS y se bloquearon en BSA al 5 % durante 30 minutos a 37 °C. Las células se incubaron con anti- α -SMA (clon 1A4 DAKO, Cat.#36962) y luego se detectaron con el anticuerpo secundario AlexaFluor AF594 (Life Technologies, Cat.# A21203) (2 μ g/mL) durante 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, las células se tiñeron usando anti-EpCAM-AF488 humano (Cell Signaling Technology, Cat.# 5198) y se lavaron 3 veces en PBS. Finalmente, los portaobjetos se retiraron de las cámaras y se montaron con un cubreobjetos utilizando ProLong Diamond Anti-Fade con DAPI (Life Technologies, Cat.#36962). La adquisición de imágenes se realizó utilizando el software Zeiss Axiovision en un microscopio fluorescente invertido Zeiss Axiovert 200M. Las diferencias estadísticas entre los grupos se determinaron utilizando la prueba T no pareada en GraphPad Prism™. Las imágenes representativas y la representación gráfica de las poblaciones de células cancerosas y fibroblastos contadas por microscopía se muestran en la Figura 15F. De manera similar a las observaciones en las Figuras 15B-15E, se observó una disminución significativa en las células cancerosas después del tratamiento de los tumores EBC-1 con huM25-vcMMAE-E2, mientras que una población de fibroblastos continuó persistiendo. Además, la tinción para la fosfohistona H3 (pHH3) indicó que después de 72 horas, se evidencia un mayor número de figuras mitóticas después del tratamiento con huM25-vcMMAE-E2 (Figura 15G), lo que indica la detención del ciclo celular en la mitosis. El porcentaje de células positivas para pHH3 disminuyó con una dosificación adicional y un tiempo más largo (Figura 15H) correlacionando con la muerte de células cancerosas y la reducción del tumor (Figura 15A). Los tumores EBC-1 en el día 11 después del tratamiento mostraron una tinción mejorada para CD45 y F4/80 después del tratamiento con huM25-vcMMAE-E2 en comparación con el ADC de isotipo (Figura 15I).

Los datos mostrados en la Figura 15A-15I sugieren que huM25-vcMMAE-E2 funciona al menos en parte a través de la actividad dirigida a huLRRC15 de eliminación de células en la vecindad de la porción MMAE. MMAE es una porción permeable en las células lo cual le permite pasar a través de las membranas celulares sin transporte activo. Los datos que se muestran sugieren que los ADC de MMAE que se unen a huLRRC15 son internalizados por los fibroblastos del estroma los cuales liberan MMAE libre que luego pueden ser absorbidos pasivamente por las células cancerosas vecinas de manera retardada, lo que resulta en una potente destrucción de las células cancerosas. La localización de los ADC anti-huLRRC15 que contienen MMAE en una concentración más alta dentro del estroma del cáncer también puede dar como resultado una liberación y escisión no específica del conector valina-citrulina extracelularmente, que luego puede cruzar las membranas de las células cancerosas y causar la muerte celular. Cuando la porción MMFA no permeable en las células se conjugó con huM25 y se probó en células EBC-1, no hubo actividad aparente, lo que sugiere que las propiedades de permeabilidad en las células de MMAE son necesarias para la actividad dirigida de eliminación de células en la vecindad de huM25-vcMMAE-E2 *in vivo*.

Un panel de tumores humanos mostrado en la Figura 16 se tiñó por IHC para el marcador de proliferación Ki67. El cáncer Ki67 positivo y las poblaciones de células del estroma dentro de cada tumor se contaron por separado y se graficaron. Los datos muestran que, en general, las células cancerosas dentro de varios tipos de tumores distintos (por ejemplo, colon, mama, pulmón, páncreas, ovario, melanoma, renal) tienen una velocidad de proliferación mucho más alta (Ki67 positivas) que las células del estroma. Dado que la porción MMAE requiere que las células entren a la mitosis para inducir el paro mitótico y la muerte celular posterior, la porción MMAE será más efectiva contra las células que se dividen rápidamente (por ejemplo, las células cancerosas) con respecto a las células del estroma que se dividen más lentamente (por ejemplo, los fibroblastos).

Los datos mostrados en la Figura 17A demuestran que la porción MMFA no permeable a las células puede matar las células cancerosas que expresan huLRRC15 *in vitro* (por ejemplo, HCT116-huLRRC15) cuando se conjuga con huM25 ($EC_{50} = 0,028$ nM), con una potencia similar a la observada para huM25-vcMMAE-E2 ($CE_{50} = 0,069$ nM). Por lo tanto, estos datos demuestran que el ADC huM25-mcMMAF es capaz de ser internalizado y procesado eficientemente dentro de una célula para liberar la porción antimitótica MMAF altamente potente. Sin embargo, cuando este mismo ADC huM25-mcMMAF-E2 se probó *in vivo* en el modelo tumoral PANC1 (3+ huLRRC15 positivo en estroma, negativo en cáncer) (Figura 17B), el ADC no mostró ninguna actividad *in vivo*, mientras que huM25-vcMMAE-E2 exhibió una potente eficacia antitumoral ($TGI_{m\acute{a}x}$ del 94,4 %). Estos hallazgos sugieren que huM25-vcMMAE-E2 funciona al menos en parte a través de la actividad dirigida por huLRRC15 de eliminación de células en la vecindad que se basa en las características de permeabilidad en las células de MMAE para matar las células cancerosas dentro de la masa tumoral.

Ejemplo 13. Los ADC E2 tienen un índice terapéutico igual o mejor

Los perfiles de seguridad de las preparaciones E2, E4 y E2/E4 de los ADC huM25-vcMMAE se evaluaron en un experimento de tolerabilidad en ratas (Figuras 18A-18B). Para el ensayo, las ratas Sprague Dawley de tipo silvestre se dosificaron con una sola dosis IV a niveles equivalentes de MMAE para cada conjugado de fármaco-anticuerpo. La muerte ocurrió antes (día 3/4) y en un porcentaje más alto (50 %) con huM25-vcMMAE-E4 con respecto a lo observado para huM25-vcMMAE-E2 (día 8, 25 %). Se administró el doble de la dosis de proteína anticuerpo con cantidades iguales de MMAE, y se observó una mejor supervivencia para E2 con respecto a E4. Se produjeron menos muertes en los animales que recibieron ADC E2 que ADC E4, y las muertes que ocurrieron más tarde el día 8. Amplia distribución de fármacos DAR4 tiene una MTD de 20 mg/kg. La pérdida de peso no fue significativa para huM25-vcMMAE-E2 cuando se administró a 60 mg/kg, pero hubo una mayor pérdida de peso para las ratas a las que se administró el nivel de dosis equivalente de MMAE de 30 mg/kg con huM25-vcMMAE-E4 (Figura 18B). Esta observación demuestra que los ADC anti-huLRRC15 con mayor carga de fármaco no son bien tolerados en comparación a cuando

se administra una dosis más alta de proteína con una proporción más baja de fármaco MMAE a anticuerpo, tal como 2 agentes citostáticos y/o citotóxicos por anticuerpo (E2).

Se evaluó la eficacia de cuatro preparaciones de huM25-vcMMAE que diferían en su perfil relativo de DAR (E2, E2/E4, E4 o DAR4) en tumores EBC1. Se implantaron 5 millones de células por vía subcutánea en ratones SCID/Beige, y los ratones se aleatorizaron cuando el volumen del tumor promedio para el grupo alcanzó ~200 mm³. Se administró huM25-vcMMAE intraperitonealmente a dosis equivalentes de MMAE cada siete días para un total de dos dosis. Se observó la inhibición máxima del crecimiento tumoral (TGI_{máx.}) de ≥ 89 % y un retraso en el crecimiento tumoral del 123 % en todos los grupos tratados con huM25-vcMMAE, que fue significativamente (p <0,001) mejor que para el anticuerpo de control de isotipo o el conjugado de control de isotipo correspondiente administrado en el mismo régimen (Figura 19). Todas las dosis fueron bien toleradas y no se observaron reducciones significativas del peso corporal (datos no mostrados). La eficacia en el modelo de tumor EBC1 para huM25-vcMMAE-E2 fue comparable a la de huM25-vcMMAE-E2E4 (es decir, la preparación E2/E4 de huM25-vcMMAE), huM25-vcMMAE-E4 y huM25-vcMMAE-DAR4 indicando que el DAR de orden superior no se requiere para una potencia antitumoral óptima y que es posible una mayor dosificación de anticuerpos con huM25-vcMMAE-E2. huM25-vcMMAE-E2 tuvo una eficacia comparable o ligeramente mejor que huM25-vcMMAE-DAR4 en ensayos de xenoinjerto similares realizados con tumores NCI-H226, PANC1 y HPAF-II (datos no mostrados).

La capacidad de administrar más MMAE mediante la dosificación de una dosis total de anticuerpos más alta con una proporción más baja de anticuerpos farmacológicos (DAR) de E2 resultó en una menor toxicidad que la dosificación de una dosis más baja de anticuerpos con una proporción más alta de anticuerpo a fármaco (por ejemplo, E4) en estudios de tolerabilidad en ratas (Figura 18A, 18B). También la Figura 19 muestra que el uso de una relación fármaco a anticuerpo más baja que E2 proporciona tanta eficacia antitumoral como las preparaciones de ADC que contienen una carga de fármaco más alta (por ejemplo, E2/E4, DAR4, E4) cuando se administran a niveles equivalentes de MMAE. En conjunto, estos datos demuestran que puede lograrse un índice terapéutico mejorado mediante el uso de ADC anti-huLRRC15 que contienen 2 fármacos/conectores por anticuerpo en comparación con una preparación de ADC que contiene un DAR más alto (por ejemplo, DAR4, E4). Estos datos sugieren que los ADC anti-huLRRC15 que contienen un DAR más bajo podrán dosificarse clínicamente a niveles más altos que los ADC que contienen un DAR más alto (por ejemplo, DAR4 o E4) y tendrán un índice terapéutico mejorado.

Ejemplo 14. Los ADC anti-huLRRC15 son superiores a los estándares de atención actuales

La potencia de los ADC anti-huLRRC15 en comparación con los estándares de atención actuales se evaluó en modelos de xenoinjerto con células cancerosas NCI-H1650 (NSCLC escamoso), HN5 (cabeza y cuello), EBC-1 (NSCLC escamoso), NW231 (seno) y PANC1 (Pancreático). El Anti-huLRRC15 ADC huM25-vcMMAE-E2 se comparó con erlotinib, carboplatino, cetuximab, doxorubicina y gemcitabina. Los agentes de atención estándares se dosificaron a niveles de dosis máximamente eficaces o máximamente tolerados. Para la Figura 20A, se implantaron células NCI-H1650 (5 millones de células) por vía subcutánea en ratones SCID/Beige y los tumores se aleatorizaron cuando alcanzaron ~200 mm³ y se dosificaron con productos biológicos a 6 o 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que erlotinib se dosificó por vía oral diariamente durante 10 días a 100 mg/kg, y carboplatino se administró por vía intraperitoneal Q4Dx4 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 4 dosis) a 50 mg/kg. La eficacia antitumoral para huM25-vcMMAE-E2 (TGI_{máx.} del 92 %, TGD del 450 %) fue superior a la observada para erlotinib (TGI_{máx.} del 90 %, TGD del 77 %) o carboplatino (TGI_{máx.} de 56 %, TGD del 77 %).

En la Figura 20B, se implantaron células HN5 (5 millones) por vía subcutánea en ratones NSG, y los ratones se aleatorizaron cuando el volumen promedio del tumor en el grupo alcanzó ~200 mm³, después se dosificaron con mAb de isotipo o ADC a 4,5 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que erlotinib se dosificó por vía oral diariamente durante 10 días a 150 mg/kg, y cetuximab se dosificó por vía intraperitoneal Q7Dx3 (una dosis administrada cada 7 días para un total de 3 dosis) a 3 mg/kg. La eficacia antitumoral para huM25-vcMMAE-E2 (TGI_{máx.} de 96 %, TGD de 194%) fue superior a la observada para erlotinib (TGI_{máx.} de 23 %, TGD de 12 %) o cetuximab (TGI_{máx.} de 73 %, TGD de 59 %).

En la Figura 20C, se implantaron células EBC1 (5 millones) por vía subcutánea en ratones SCID/Beige y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~200 mm³, después los ratones se dosificaron con productos biológicos a 6 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q7Dx2 (una dosis administrada cada 7 días durante un total de 2 dosis), mientras que erlotinib se administró por vía oral diariamente durante 10 días a 50 mg/kg, y carboplatino se administró por vía intraperitoneal Q4Dx3 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 3 dosis) a 50 mg/kg. La eficacia antitumoral para huM25-vcMMAE-E2 (TGI_{máx.} de 92 %+, TGD de 129 %) fue superior a la observada para erlotinib (TGI_{máx.} de 27 %, TGD de 14 %) o carboplatino (TGI_{máx.} de 39 %, TGD del 43 %).

En la Figura 20D se implantaron por vía subcutánea células cancerosas de mama NW231 (10 millones) en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~150 mm³, después los ratones se dosificaron con productos biológicos a 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días durante un total de 6 dosis), mientras que la doxorubicina se dosificó por vía intravenosa a 1 mg/kg los días 0, 4, 8, 13 y 18. La

eficacia antitumoral para huM25-vcMMAE-E2 ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 89 %) fue superior a la observada para doxorubicina ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 65 %).

En la Figura 20E, se implantaron células cancerosas de páncreas PANC1 (10 millones) por vía subcutánea en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron -125 mm^3 y se dosificaron con productos biológicos a 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días durante un total de 6 dosis), mientras que la gemcitabina se dosificó por vía intraperitoneal a 100 mg/kg Q3Dx4 (una dosis administrada cada tres días para un total de 4 dosis). La eficacia antitumoral para huM25-vcMMAE-E2 ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 94 %) fue superior a la observada para gemcitabina ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 55 %).

Los datos de eficacia *in vivo* mostrados en la Figura 20A-20E proporciona ejemplos de dónde los ADC anti-huLRRC15 como huM25-vcMMAE-E2 superaron a los agentes estándares de atención (por ejemplo, carboplatino, erlotinib, gemcitabina, cetuximab, doxorubicina) comúnmente utilizados en la terapia contra el cáncer. Estos datos sugieren que los ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, HuM25-vcMMAE-E2) pueden ser más eficaces clínicamente que ciertas terapias contra el cáncer comúnmente utilizadas.

Ejemplo 15. Los ADC anti-huLRRC15 son activos cuando se administran como complemento de los tratamientos anticancerígenos citotóxicos

La eficacia antitumoral de los ADC anti-huLRRC15 administrados junto con la radiación y otros agentes quimioterapéuticos no dirigidos (por ejemplo, gemcitabina, docetaxel, carboplatino) se demostró en modelos de xenoinjerto con HPAF-II (pancreático), EBC-1 (NSCLC escamoso) y células SCC-15 (cabeza y cuello). Se observó una mejor actividad antitumoral cuando los ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, HuM25-vcMMAE-E2) se administraron de forma complementaria con estos tratamientos anticancerígenos citotóxicos. La eficacia del tratamiento complementario fue mejor que la eficacia observada para cualquier fármaco solo.

En la Figura 21A, las células de cáncer pancreático HPAF-II (1 millón) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron -200 mm^3 y se dosificaron con productos biológicos a 6 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que la gemcitabina se dosificó por vía intraperitoneal a 100 mg/kg (Q3Dx4) x2 (una dosis administrada cada tres días para 4 dosis por ciclo, 2 ciclos con 8 dosis totales administradas). En este modelo a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-E2 ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 57 %, TGD del 57 %) y gemcitabina ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 73 %, TGD del 117 %) aumentó cuando se utilizó de forma complementaria ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 85 %, TGD del 183 %) logrando una mejor eficacia que la observada para cualquiera de los agentes individuales solos.

En la Figura 21B, se implantaron por vía subcutánea células NSCLC escamosas EBC-1 (5 millones) en ratones SCID/Beige, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron $\sim 200\text{ mm}^3$ y se dosificaron con productos biológicos a 6 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q7Dx2 (una dosis administrada cada 7 días para un total de 2 dosis), mientras que la gemcitabina se dosificó por vía intraperitoneal a 100 mg/kg (Q3Dx3) (una dosis administrada cada tres días para un total de 3 dosis). En este modelo, a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-E2 a 3 mg/kg ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 91 %, TGD del 144 %) y docetaxel ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 77 %, TGD del 48 %) aumentó cuando se usó de forma complementaria ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 98 %, TGD de 348 %) para lograr una mejor eficacia que la observada para cualquier agente único solo.

Los resultados mostrados en la Figura 21C resaltan la actividad mejorada cuando ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, HuM25-vcMMAE-DAR4) se administran junto con docetaxel. Las células escamosas EBC-1 de NSCLC (5 millones) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID/Beige, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron $\sim 200\text{ mm}^3$ y se dosificaron con productos biológicos a 3 o 6 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que docetaxel se dosificó por vía intravenosa una vez a 7,5 mg/kg Q3Dx3 (una dosis administrada cada 3 días para un total de 3 dosis). En este modelo a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-DAR4 ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 92 %, TGD del 129 %) y gemcitabina ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 95 %, TGD del 171 %) aumentó cuando se usó de forma complementaria ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 98 %, TGD de 533 %) para lograr una mejor eficacia que la observada para cualquiera de los agentes individuales solos.

La radiación es una terapia citotóxica comúnmente utilizada en oncología. Los datos mostrados en la Figura 21D resalta la actividad mejorada cuando los ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, huM25-vcMMAE-E2) se administran de forma complementaria a la radioterapia. Las células cancerosas de cabeza y cuello SCC-15 (1 millón) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron -200 mm^3 y se dosificaron con productos biológicos a 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que la radiación se dirigió al tumor con una dosis de radiación única de 15 Gy en el día 0. En este modelo a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-E2 ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 58 %, TGD del 44 %) y la radiación ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 66 %, TGD del 88 %) aumentó cuando se usó de forma complementaria ($TGI_{m\acute{a}x.}$ del 90 %, TGD del 219 %) para lograr una mejor eficacia que la observada para cualquier agente solo.

Los resultados mostrados en la Figura 21E resaltan la actividad mejorada cuando se administran ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, huM25-vcM-MAE-E2) como complementario al carboplatino. Las células de cáncer de cabeza y cuello SCC-15 (1 millón) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~200 mm³ y se dosificaron con productos biológicos a 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q7Dx6 (una dosis administrada cada 7 días para un total de 6 dosis), mientras que el carboplatino se dosificó por vía intraperitoneal una vez a 50 mg/kg Q4Dx4 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 4 dosis). En este modelo a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-E2 (TGI_{máx.} del 58 %, TGD del 44 %) y carboplatino (TGI_{máx.} del 56 %, TGD del 33 %) aumentó cuando se utilizó de forma complementaria (TGI_{máx.} del 86 %, TGD del 83 %) para lograr una mejor eficacia que la observada para cualquier agente solo.

Los datos resumidos en la Figura 21A-21E demuestran que los ADC anti-huLRRC15 utilizaron de forma complementaria a los agentes anticancerígenos citotóxicos (por ejemplo, gemcitabina, docetaxel, carboplatino, radiación) mejoraron la eficacia en comparación con cada agente solo. Esto sugiere que los ADC anti-huLRRC15 tales como huM25-vcMMAE-E2 cuando se administran de forma complementaria a los agentes anticancerígenos citotóxicos pueden ser más efectivos en pacientes con cáncer que cualquier agente solo.

Ejemplo 16. Los ADC anti-huLRRC15 son activos cuando se administran junto con otros agentes dirigidos contra el cáncer

La eficacia antitumoral de los ADC anti-huLRRC15 administrados en forma complementaria con otros agentes quimioterapéuticos específicos (por ejemplo, erlotinib, cetuximab, anticuerpo anti-PD-1) se demostró en modelos de xenoinjerto con células cancerosas NCI-H1650 (adeno NSCLC), HN5 (cabeza y cuello), SCC-15 (cabeza y cuello) y MC38 (colorrectales de ratón singénicos). Se observó una mejor actividad antitumoral cuando se administraron ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, huM25-vcMMAE-E2) de manera complementaria con estos tratamientos dirigidos contra el cáncer. La eficacia de la forma complementaria fue mejor que la eficacia de cualquier fármaco solo.

Los resultados mostrados en la Figura 22A resaltan la actividad mejorada cuando se administran ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, huM25-vcM-MAE-E2) en forma complementaria con erlotinib. Células cancerosas de NSCLC NCI-H1650 (5 millones) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID/Beige, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~200 mm³ y se dosificaron con productos biológicos a 6 o 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que erlotinib se dosificó por vía oral diariamente a 100 mg/kg durante 10 dosis. En este modelo a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-E2 (TGI_{máx.} del 92 %, TGD del 450 %) y erlotinib (TGI_{máx.} del 90 %, TGD del 77 %) aumentó cuando se usó de forma complementaria (TGI_{máx.} de 92 %, TGD de >538 %) logrando una mejor eficacia que la observada para cualquiera de los agentes individuales solo.

Los resultados mostrados en la Figura 22B resaltan la actividad mejorada cuando se administran ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, huM25-vcM-MAE-E2) como adyuvante de cetuximab. Las células cancerosas de cabeza y cuello SCC-15 (1 millón) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~200 mm³ y se dosificaron con anticuerpos de isotipo o ADC a 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q7Dx6 (una dosis administrada cada 7 días para un total de 6 dosis), mientras que cetuximab se administró por vía intraperitoneal a 3 mg/kg Q7Dx3 (una dosis administrada cada 7 días para un total de 3 dosis). En este modelo a las dosis probadas, la eficacia antitumoral observada para huM25-vcMMAE-E2 (TGI_{máx.} del 58 %, TGD del 44 %) y cetuximab (TGI_{máx.} del 66 %, TGD del 58 %) aumentó cuando se usó de forma complementaria. (TGI_{máx.} del 87 %, TGD de 125 %) para lograr una mejor eficacia que la observada para cualquiera de los agentes individuales solos.

Los resultados mostrados en la Figura 22C resalta la actividad mejorada cuando los ADC anti-huLRRC15 (por ejemplo, huM25-vcM-MAE-E2) se administran de forma complementaria a los agentes dirigidos anti-PD-1, como un anticuerpo anti-PD-1. Los ejemplos de anticuerpos anti-PD-1 incluyen los descritos en la solicitud provisional de Estados Unidos 62/394,314, tal como el anticuerpo anti-PD-1 que tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada de la SEQ ID NO: 91 o 92, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93, utilizada en este Ejemplo.

Las células de cáncer colorrectal de ratón MC-38 (250,000) se implantaron por vía subcutánea en ratones C57BL/6, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~100 mm³ y se dosificaron con anticuerpos isotipo o ADC a 12 mg/kg por vía intraperitoneal en un Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis), mientras que el anticuerpo anti-PD-1 ("mAb Anti-PD1") se administró por vía intraperitoneal a 2 mg/kg de Q4Dx6 (una dosis administrada cada 4 días para un total de 6 dosis). En este modelo, huM25-vcMMAE-E2 no mostró actividad de agente único, mientras que el anticuerpo anti-PD-1 solo, mostró una eficacia (TGI_{máx.} del 67%). El huM25-vcMMAE-E2 administrado de forma complementaria con el anticuerpo anti-PD-1 fue más efectivo (TGI_{máx.} del 87 %) que cualquiera de los agentes solo. Dado que huM25-vcMMAE-E2 no tenía actividad de agente único en este modelo, la actividad mejorada cuando se usaba de forma complementaria con el anticuerpo anti-PD-1 era inesperada. Este nuevo hallazgo sugiere que los ADC anti-huLRRC15, cuando se usan junto con agentes inmunomoduladores como el anticuerpo anti-PD-1, pueden haber mejorado la actividad anticancerígena sobre cualquier agente solo.

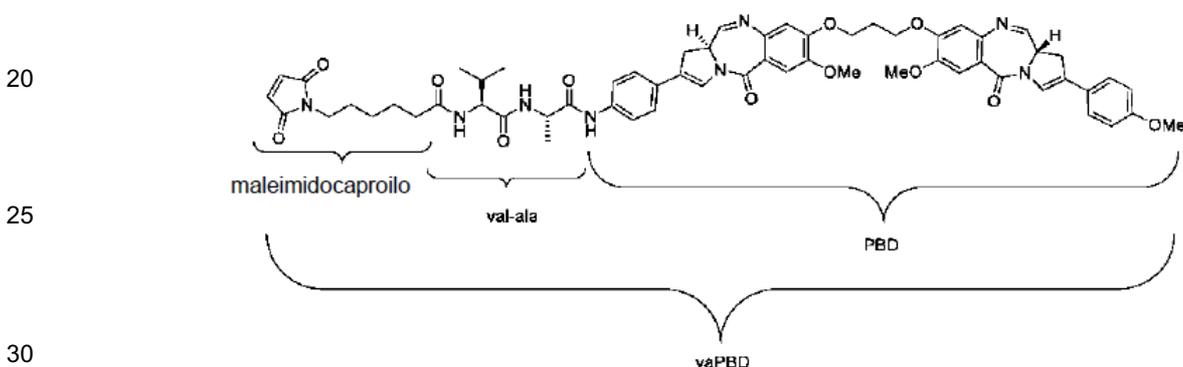
Los datos resumidos en la Figura 22A-22C demuestran que los ADC anti-huLRRC15 administrados de forma complementaria a los agentes anticancerígenos dirigidos (por ejemplo, el anticuerpo anti-PD-1, erlotinib, cetuximab)

tienen una eficacia mejorada en comparación con cada agente solo. Esto sugiere que los ADC anti-huLRRC15 tales como huM25-vcMMAE-E2 pueden ser más efectivos clínicamente cuando se usan de forma complementaria a los agentes anticancerígenos dirigidos en pacientes con cáncer en comparación con cualquier agente solo.

5 Ejemplo 17. Los ADC anti-huLRRC15 que comprenden porciones que dañan el ADN son activos

La potente actividad antitumoral de los ADC anti-huLRRC15 que comprenden agentes citostáticos y/o citotóxicos que dañan el ADN contra varios tipos de tumores huLRRC15 estroma(+)/cáncer(-) se demostró con diferentes ADC ilustrativos en modelos de xenoinjerto con células cancerosas EBC-1 (NSCLC escamoso), NCI-H1650 (adeno NSCLC), HN-5 (cabeza y cuello), HPAF-II (pancreático) y PANC-1 (pancreático).

Para los experimentos, se prepararon ADC anti-huLRRC15 que comprenden un agente citostático y/o citotóxico de dímero de pirrolobenzodiazepina ("PBD") conjugando el intonon PBD ilustrado a continuación ("vaPBD") con el anticuerpo anti-huLRRC15 huAD208.4.1 o un anticuerpo de control de isotipo para producir un DAR de 2. La preparación del ADC huAD208.4.1-PBD-DAR2 se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 8.



De manera análoga, los ADC que contienen PBD se prepararon con huM25 que comprende una mutación diseñada S239C en la región constante ("huM25-S239C") para permitir la generación preferencial de un ADC DAR2 con el vaPBD mostrado anteriormente. Tal como se usa en la presente descripción, huM25-S239C se refiere a un anticuerpo anti-huLRRC15 o ADC que tiene una secuencia de aminoácidos de cadena pesada según la SEQ ID NO: 100 o 103, y una secuencia de aminoácidos de cadena ligera según la SEQ ID NO: 19. En consecuencia, los ADC que comprenden la mutación S239C no requirieron separación cromatográfica con el objetivo de presentar un enriquecimiento en los ADC que tienen DAR2. Por lo tanto, los ADC preparados que comprenden un anticuerpo huLRRC15 y la mutación S239C, incluyendo los que comprenden huM25-S239C, se denominan en la presente descripción "E2".

La Figura 23A muestra que la destrucción celular *in vitro* de células transfectadas con 3T12-huLRRC15 mediante ADC dirigido a huLRRC15 huM25-S239C-PBD-E2 (es decir, el ADC se formó con dominios variables huM25 con la variante S239C en la región Fc para permitir la formación selectiva de la preparación DAR2 del aducto vaPBD) es significativamente mayor que el del isotipo ADC isotipo-S239C-PBD-E2 que tiene la misma región Fc y el fármaco PBD exhibido de la misma manera. Tal resultado se debe presumiblemente a la localización del ADC huM25-S239C-PBD-E2 en la superficie de la célula que expresa huLRRC15 antes de ser internalizado y procesado enzimáticamente para liberar el agente citotóxico PBD.

50 Ejemplo 18. Los ADC de PBD anti-huLRRC15 eliminan células con propiedades mesenquimales

Como se describió anteriormente en el Ejemplo 7, las células cancerosas que experimentaron EMT tuvieron una mayor expresión de huLRRC15 en comparación con las células que no se experimentaron EMT. Los datos proporcionados en el presente ejemplo muestran que este nivel aumentado de expresión de huLRRC15 se correlacionó con una mayor sensibilidad a los ADC que se dirigieron a huLRRC15. Como se muestra en las Figuras 23B y 23C, el ADC anti-LRRC15 huAD208.4.1-PBD-DAR2, que presentó reactividad cruzada con LRRC15 humano y de ratón, demostró efectos de eliminación de células *in vitro* contra células madre mesenquimatosas que expresan LRRC15. En BM-MSc humano (Lonza) tratado con 10 ng/ml de TGF β , huAD208.4.1-PBD-DAR2 mostró un mayor efecto de eliminación de células en comparación con el isotipo-PBD-DAR2 a las mismas dosis (Figura 23B). También se observó un perfil de efecto de eliminación de células *in vitro* similar en Balb/c BM-MSc (Cyagen) murino tratado con TGF β (10 ng/ml) y cada uno de los ADC (Figura 23C).

Además, la Figura 23D representa experimentos en los que los ADC anti-huLRRC eliminaron células cancerosas de pulmón A549 que levaron cabo una transición epitelial-mesenquimatosas (EMT). Las células A549 estándares no mostraron una diferencia de viabilidad después del tratamiento con el isotipo-S239C-PBD-E2 o huM25-S239C-PBD-E2 (gráfico en la parte superior). Sin embargo, en las células transformadas A549-EMT tratadas con TGF β , el ADC

específico de huLRRC15 huM25-S239C-PBD-E2 exhibió un efecto de eliminación de células significativamente mayor que el isotipo ADC ($CE_{50} = 0,01$ nM con respecto a 2,3 nM para el isotipo ADC) (gráfico en la parte inferior).

Ejemplo 19. Los ADC de PBD anti-huLRRC15 exhiben efectos antitumorales *in vivo*

5

Los ejemplos anteriores muestran que la expresión de huLRRC15 se incrementó en ciertas células cancerosas que experimentaron EMT, y esas células fueron más sensibles a los ADC huLRRC15 *in vitro*. Los datos proporcionados en el presente Ejemplo demuestran que los mismos ADC huLRRC15 exhiben una eficacia significativa *in vivo*. La Figura 24A representa el efecto del tratamiento de ratones SCID con tumores escamosos de NSCLC EBC-1. Las células NSCLC EBC-1 escamosas (5 millones) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~ 175 mm³ y se dosificaron con ADC o anticuerpo de isotipo a 0,6 mg/kg por vía intraperitoneal en el día 0. Con una dosis única de ADC, huM25-S239C-PBD-E2 demostró un efecto antitumoral significativo después de 13 días en comparación con la misma dosis de isotipo-S239C-PBD-E2 ($p < 0,01$).

10

15

Las Figuras 24B-24D representa los resultados de inmunohistoquímica del experimento *in vivo* representado en la Figura 24A, consistente con una respuesta inmunológica antitumoral. La Figura 24B muestra imágenes de cortes tumorales ilustrativos teñidos para α SMA, un marcador de fibroblastos asociados a cáncer, con un aumento de 1x (imágenes superiores) y 20x (imágenes inferiores). Las muestras se tomaron de ratones a los que se les administró anticuerpo de isotipo (izquierda), ADC isotipo-S239C-PBD-E2 (centro) y huM25-S239C-PBD-E2 (derecha), mostrando 80 %, 90 % y 60 % de positividad α -SMA tumoral, respectivamente. La cuantificación de α -SMA en las muestras se representa en la Figura 24C, lo que indica una tendencia a reducir la α -SMA tras el tratamiento con ADC huLRRC15 específico. Además, la Figura 24D muestra un aumento tanto en la expresión de F4/80 como de CD11c con el tratamiento de ADC huLRRC15, lo que sugiere un inicio de una respuesta inmunológica dentro del tumor.

20

25

La Figura 24E representa otra modalidad ilustrativa de un ADC - huM25-S239C-PBD-E2 - que comprende una porción que daña el ADN y condujo a la actividad antitumoral *in vivo* en un modelo de xenoinjerto NCI-H1650. Las células cancerosas NSCLC NCI-H1650 (5 millones) se implantaron por vía subcutánea en ratones SCID/Beige, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~ 200 mm³ y se dosificaron en el día 0 con isotipo o ADC a 0,1, 0,3 o 0,6 mg/kg intraperitonealmente. El ADC huM25-S239C-PBD-E2 mostró un efecto antitumoral dependiente de la dosis a 0,1, 0,3 y 0,6 mg/kg en comparación con el anticuerpo de isotipo, cuando se midió por el volumen del tumor en el número de días después del emparejamiento por tamaño y una dosis única del ADC.

30

35

La Figura 24F muestra que el ADC huM25-S239C-PBD-E2 dirigido a LRRC15 indujo un efecto antitumoral estadísticamente significativo en el volumen tumoral en un modelo de xenoinjerto NCI-H1650 ($p < 0,05$), en comparación con el ADC de isotipo con la misma porción que daña el ADN a la misma concentración, consistente con la entrega dirigida del componente de anticuerpo huLRRC15 que causa la localización del ADC, permitiendo de esta manera que la porción que daña el ADN aumente la destrucción de células cancerosas.

40

La Figura 24G representa otra modalidad ilustrativa de un ADC - huAD208.4.1-PBD-DAR2 - que comprendía una porción que daña el ADN y condujo a la actividad antitumoral *in vivo*. Se implantaron por vía subcutánea células adeno NSCLC NCI-H1650 (5 millones) en ratones SCID/Beige, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~ 225 mm³ y se dosificaron con ADC a 0,6 mg/kg o un anticuerpo de isotipo a 12 mg/kg intraperitonealmente una vez en el día 0. La eficacia antitumoral para este ADC PBD anti-huLRRC15 ("huAD208.4.1-PBD-DAR2") fue $TGI_{m\acute{a}x}$ del 95 % y TGD > 388 %.

45

En la Figura 24H, se implantaron por vía subcutánea células NSCLC EBC-1 escamosas (5 millones) en ratones SCID, y los ratones se aleatorizaron cuando los tumores alcanzaron ~ 225 mm³ y se dosificaron con ADC a 0,6 mg/kg Q7Dx2 (una dosis administrada cada 7 días durante un total de 2 dosis) o anticuerpo de isotipo a 6 mg/kg por vía intraperitoneal a partir del día 0. La eficacia antitumoral de huAD208.4.1-PBD-DAR2 fue $TGI_{m\acute{a}x}$ del 91 % y TGD > 600 %.

50

La potente actividad antitumoral mostrada en las Figuras 24A-24H con ADC anti-huLRRC15 que comprenden el agente citostático y/o citotóxico que daña el ADN PBD demuestra que el objetivo huLRRC15 puede usarse para administrar ADC anti-huLRRC15 que contienen agentes citostáticos y/o citotóxicos con diferentes mecanismos de acción (por ejemplo, daño del ADN a través del suministro de pirrolobenzodiazepina) al sitio del tumor para provocar una respuesta antitumoral. Estos hallazgos sugieren que diferentes anticuerpos anti-huLRRC15 (por ejemplo, HuAD208.4.1, huM25, huAD208.14.1, hu139.10, muAD210.40.9 o muAD208.9.1) pueden conjugarse con diferentes agentes citostáticos y/o citotóxicos para administrar con éxito el agente (s) a un tumor e inducir la inhibición del crecimiento del cáncer.

55

60

Listado de secuencias

<110> ABBVIE BIOTHERAPEUTICS INC. ABBVIE INC.

<120> CONJUGADOS FÁRMACO-ANTICUERPO ANTI-HULRRC15 Y MÉTODOS PARA SU USO

65

<130> 381493-259WO (144357)

ES 2 810 755 T3

<140>
 <141>

5 <150> 62/417,480
 <151> 2016-11-04

<150> 62/261,092
 <151> 2015-11-30

10 <160> 111

<170> PatentIn versión 3.5

15 <210> 1
 <211> 587
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 1

Met Pro Leu Asp Lys Ala Met Pro Leu Lys His Tyr Leu Leu Leu Leu
 1 5 10 15

25 Val Gly Cys Gln Ala Trp Gly Ala Gly Leu Ala Tyr His Gly Cys Pro
 20 25 30

Ser Glu Cys Thr Cys Ser Arg Ala Ser Gln Val Glu Cys Thr Gly Ala
 35 40 45

30 Arg Ile Val Ala Val Pro Thr Pro Leu Pro Trp Asn Ala Met Ser Leu
 50 55 60

35 Gln Ile Leu Asn Thr His Ile Thr Glu Leu Asn Glu Ser Pro Phe Leu
 65 70 75 80

40 Asn Ile Ser Ala Leu Ile Ala Leu Arg Ile Glu Lys Asn Glu Leu Ser
 85 90 95

45 Arg Ile Thr Pro Gly Ala Phe Arg Asn Leu Gly Ser Leu Arg Tyr Leu
 100 105 110

Ser Leu Ala Asn Asn Lys Leu Gln Val Leu Pro Ile Gly Leu Phe Gln
 115 120 125

50 Gly Leu Asp Ser Leu Glu Ser Leu Leu Leu Ser Ser Asn Gln Leu Leu
 130 135 140

55

60

65

ES 2 810 755 T3

5 Gln Ile Gln Pro Ala His Phe Ser Gln Cys Ser Asn Leu Lys Glu Leu
 145 150 155 160
 Gln Leu His Gly Asn His Leu Glu Tyr Ile Pro Asp Gly Ala Phe Asp
 165 170 175
 10 His Leu Val Gly Leu Thr Lys Leu Asn Leu Gly Lys Asn Ser Leu Thr
 180 185 190
 His Ile Ser Pro Arg Val Phe Gln His Leu Gly Asn Leu Gln Val Leu
 195 200 205
 15 Arg Leu Tyr Glu Asn Arg Leu Thr Asp Ile Pro Met Gly Thr Phe Asp
 210 215 220
 20 Gly Leu Val Asn Leu Gln Glu Leu Ala Leu Gln Gln Asn Gln Ile Gly
 225 230 235 240
 Leu Leu Ser Pro Gly Leu Phe His Asn Asn His Asn Leu Gln Arg Leu
 245 250 255
 25 Tyr Leu Ser Asn Asn His Ile Ser Gln Leu Pro Pro Ser Val Phe Met
 260 265 270
 30 Gln Leu Pro Gln Leu Asn Arg Leu Thr Leu Phe Gly Asn Ser Leu Lys
 275 280 285
 35 Glu Leu Ser Pro Gly Ile Phe Gly Pro Met Pro Asn Leu Arg Glu Leu
 290 295 300
 Trp Leu Tyr Asp Asn His Ile Ser Ser Leu Pro Asp Asn Val Phe Ser
 305 310 315 320
 40 Asn Leu Arg Gln Leu Gln Val Leu Ile Leu Ser Arg Asn Gln Ile Ser
 325 330 335
 45 Phe Ile Ser Pro Gly Ala Phe Asn Gly Leu Thr Glu Leu Arg Glu Leu
 340 345 350
 Ser Leu His Thr Asn Ala Leu Gln Asp Leu Asp Gly Asn Val Phe Arg
 355 360 365
 50 Met Leu Ala Asn Leu Gln Asn Ile Ser Leu Gln Asn Asn Arg Leu Arg
 370 375 380
 55 Gln Leu Pro Gly Asn Ile Phe Ala Asn Val Asn Gly Leu Met Ala Ile
 385 390 395 400

ES 2 810 755 T3

	Gln	Leu	Gln	Asn	Asn	Gln	Leu	Glu	Asn	Leu	Pro	Leu	Gly	Ile	Phe	Asp	
				405					410						415		
5	His	Leu	Gly	Lys	Leu	Cys	Glu	Leu	Arg	Leu	Tyr	Asp	Asn	Pro	Trp	Arg	
				420					425					430			
10	Cys	Asp	Ser	Asp	Ile	Leu	Pro	Leu	Arg	Asn	Trp	Leu	Leu	Leu	Asn	Gln	
			435					440					445				
15	Pro	Arg	Leu	Gly	Thr	Asp	Thr	Val	Pro	Val	Cys	Phe	Ser	Pro	Ala	Asn	
			450				455					460					
20	Val	Arg	Gly	Gln	Ser	Leu	Ile	Ile	Ile	Asn	Val	Asn	Val	Ala	Val	Pro	
	465					470					475					480	
25	Ser	Val	His	Val	Pro	Glu	Val	Pro	Ser	Tyr	Pro	Glu	Thr	Pro	Trp	Tyr	
					485					490					495		
30	Pro	Asp	Thr	Pro	Ser	Tyr	Pro	Asp	Thr	Thr	Ser	Val	Ser	Ser	Thr	Thr	
				500					505					510			
35	Glu	Leu	Thr	Ser	Pro	Val	Glu	Asp	Tyr	Thr	Asp	Leu	Thr	Thr	Ile	Gln	
			515					520					525				
40	Val	Thr	Asp	Asp	Arg	Ser	Val	Trp	Gly	Met	Thr	Gln	Ala	Gln	Ser	Gly	
		530					535					540					
45	Leu	Ala	Ile	Ala	Ala	Ile	Val	Ile	Gly	Ile	Val	Ala	Leu	Ala	Cys	Ser	
	545					550					555				560		
50	Leu	Ala	Ala	Cys	Val	Gly	Cys	Cys	Cys	Cys	Lys	Lys	Arg	Ser	Gln	Ala	
				565						570					575		
55	Val	Leu	Met	Gln	Met	Lys	Ala	Pro	Asn	Glu	Cys						
				580					585								
60	<210>	2															
	<211>	1761															
	<212>	ADN															
	<213>	Homo sapiens															
65	<220>																
	<221>	CDS															
	<222>	(1)..(1761)															
70	<400>	2															
	atg	cct	ttg	gac	aag	gct	atg	cca	ctg	aag	cat	tat	ctc	ctt	ttg	ctg	48
	Met	Pro	Leu	Asp	Lys	Ala	Met	Pro	Leu	Lys	His	Tyr	Leu	Leu	Leu	Leu	

ES 2 810 755 T3

	1		5		10		15	
	gtg ggc tgc caa gcc tgg ggt gca ggg ttg gcc tac cat ggc tgc cct							96
5	Val Gly Cys	Gln Ala Trp	Gly Ala Gly	Leu Ala Tyr	His Gly Cys	Pro		
		20	25		30			
	agc gag tgt acc tgc tcc agg gcc tcc cag gtg gag tgc acc ggg gca						144	
	Ser Glu Cys	Thr Cys Ser	Arg Ala Ser	Gln Val Glu	Cys Thr Gly	Ala		
		35	40		45			
10	cgc att gtg gca gtg ccc acc cct ctg ccc tgg aac gcc atg agc ctg						192	
	Arg Ile Val	Ala Val Pro	Thr Pro Leu	Pro Trp Asn	Ala Met Ser	Leu		
		50	55		60			
15	cag atc ctc aac acg cac atc act gaa ctc aat gag tcc ccg ttc ctc						240	
	Gln Ile Leu	Asn Thr His	Ile Thr Glu	Leu Asn Glu	Ser Pro Phe	Leu		
	65	70	75		80			
	aat atc tca gcc ctc atc gcc ctg agg att gag aag aat gag ctg tcg						288	
	Asn Ile Ser	Ala Leu Ile	Ala Leu Arg	Ile Glu Lys	Asn Glu Leu	Ser		
		85	90		95			
20	cgc atc acg cct ggg gcc ttc cga aac ctg ggc tcg ctg cgc tat ctc						336	
	Arg Ile Thr	Pro Gly Ala	Phe Arg Asn	Leu Gly Ser	Leu Arg Tyr	Leu		
		100	105		110			
25	agc ctc gcc aac aac aag ctg cag gtt ctg ccc atc ggc ctc ttc cag						384	
	Ser Leu Ala	Asn Asn Lys	Leu Gln Val	Leu Pro Ile	Gly Leu Phe	Gln		
		115	120		125			
	ggc ctg gac agc ctc gag tct ctc ctt ctg tcc agt aac cag ctg ttg						432	
	Gly Leu Asp	Ser Leu Glu	Ser Leu Leu	Ser Ser Asn	Gln Leu Leu			
		130	135		140			
30	cag atc cag ccg gcc cac ttc tcc cag tgc agc aac ctc aag gag ctg						480	
	Gln Ile Gln	Pro Ala His	Phe Ser Gln	Cys Ser Asn	Leu Lys Glu	Leu		
		145	150		155		160	
35	cag ttg cac ggc aac cac ctg gaa tac atc cct gac gga gcc ttc gac						528	
	Gln Leu His	Gly Asn His	Leu Glu Tyr	Ile Pro Asp	Gly Ala Phe	Asp		
		165	170		175			
	cac ctg gta gga ctc acg aag ctc aat ctg ggc aag aat agc ctc acc						576	
	His Leu Val	Gly Leu Thr	Lys Leu Asn	Leu Gly Lys	Asn Ser Leu	Thr		
		180	185		190			
40	cac atc tca ccc agg gtc ttc cag cac ctg ggc aac ctc cag gtc ctc						624	
	His Ile Ser	Pro Arg Val	Phe Gln His	Leu Gly Asn	Leu Gln Val	Leu		
		195	200		205			
45	cgg ctg tat gag aac agg ctc acg gat atc ccc atg ggc act ttt gat						672	
	Arg Leu Tyr	Glu Asn Arg	Leu Thr Asp	Ile Pro Met	Gly Thr Phe	Asp		
		210	215		220			
50	ggg ctt gtt aac ctg cag gaa ctg gct ctg cag cag aac cag att gga						720	
	Gly Leu Val	Asn Leu Gln	Glu Leu Ala	Leu Gln Gln	Asn Gln Ile	Gly		
		225	230		235		240	
	ctg ctc tcc cct ggt ctc ttc cac aac aac cac aac ctc cag aga ctc						768	
	Leu Leu Ser	Pro Gly Leu	Phe His Asn	Asn His Asn	Leu Gln Arg	Leu		
		245	250		255			
55	tac ctg tcc aac aac cac atc tcc cag ctg cca ccc agc gtc ttc atg						816	

60

65

ES 2 810 755 T3

	Tyr	Leu	Ser	Asn	Asn	His	Ile	Ser	Gln	Leu	Pro	Pro	Ser	Val	Phe	Met	
				260					265					270			
5	cag	ctg	ccc	cag	ctc	aac	cgt	ctt	act	ctc	ttt	ggg	aat	tcc	ctg	aag	864
	Gln	Leu	Pro	Gln	Leu	Asn	Arg	Leu	Thr	Leu	Phe	Gly	Asn	Ser	Leu	Lys	
			275					280					285				
	gag	ctc	tct	ccg	ggg	atc	ttc	ggg	ccc	atg	ccc	aac	ctg	cgg	gag	ctt	912
	Glu	Leu	Ser	Pro	Gly	Ile	Phe	Gly	Pro	Met	Pro	Asn	Leu	Arg	Glu	Leu	
			290				295					300					
10	tgg	ctc	tat	gac	aac	cac	atc	tct	tct	cta	ccc	gac	aat	gtc	ttc	agc	960
	Trp	Leu	Tyr	Asp	Asn	His	Ile	Ser	Ser	Leu	Pro	Asp	Asn	Val	Phe	Ser	
	305					310					315					320	
15	aac	ctc	cgc	cag	ttg	cag	gtc	ctg	att	ctt	agc	cgc	aat	cag	atc	agc	1008
	Asn	Leu	Arg	Gln	Leu	Gln	Val	Leu	Ile	Leu	Ser	Arg	Asn	Gln	Ile	Ser	
				325						330					335		
20	ttc	atc	tcc	ccg	ggg	gcc	ttc	aac	ggg	cta	acg	gag	ctt	cgg	gag	ctg	1056
	Phe	Ile	Ser	Pro	Gly	Ala	Phe	Asn	Gly	Leu	Thr	Glu	Leu	Arg	Glu	Leu	
				340					345					350			
	tcc	ctc	cac	acc	aac	gca	ctg	cag	gac	ctg	gac	ggg	aac	gtc	ttc	cgc	1104
	Ser	Leu	His	Thr	Asn	Ala	Leu	Gln	Asp	Leu	Asp	Gly	Asn	Val	Phe	Arg	
			355				360						365				
25	atg	ttg	gcc	aac	ctg	cag	aac	atc	tcc	ctg	cag	aac	aac	cgc	ctc	aga	1152
	Met	Leu	Ala	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Ser	Leu	Gln	Asn	Asn	Arg	Leu	Arg	
			370				375					380					
30	cag	ctc	cca	ggg	aat	atc	ttc	gcc	aac	gtc	aat	ggc	ctc	atg	gcc	atc	1200
	Gln	Leu	Pro	Gly	Asn	Ile	Phe	Ala	Asn	Val	Asn	Gly	Leu	Met	Ala	Ile	
				385		390					395			400			
35	cag	ctg	cag	aac	aac	cag	ctg	gag	aac	ttg	ccc	ctc	ggc	atc	ttc	gat	1248
	Gln	Leu	Gln	Asn	Asn	Gln	Leu	Glu	Asn	Leu	Pro	Leu	Gly	Ile	Phe	Asp	
				405						410				415			
	cac	ctg	ggg	aaa	ctg	tgt	gag	ctg	cgg	ctg	tat	gac	aat	ccc	tgg	agg	1296
	His	Leu	Gly	Lys	Leu	Cys	Glu	Leu	Arg	Leu	Tyr	Asp	Asn	Pro	Trp	Arg	
				420				425						430			
40	tgt	gac	tca	gac	atc	ctt	ccg	ctc	cgc	aac	tgg	ctc	ctg	ctc	aac	cag	1344
	Cys	Asp	Ser	Asp	Ile	Leu	Pro	Leu	Arg	Asn	Trp	Leu	Leu	Leu	Asn	Gln	
			435					440					445				
45	cct	agg	tta	ggg	acg	gac	act	gta	cct	gtg	tgt	ttc	agc	cca	gcc	aat	1392
	Pro	Arg	Leu	Gly	Thr	Asp	Thr	Val	Pro	Val	Cys	Phe	Ser	Pro	Ala	Asn	
			450				455					460					
	gtc	cga	ggc	cag	tcc	ctc	att	atc	atc	aat	gtc	aac	ggt	gct	ggt	cca	1440
	Val	Arg	Gly	Gln	Ser	Leu	Ile	Ile	Ile	Asn	Val	Asn	Val	Ala	Val	Pro	
						470				475					480		
50	agc	gtc	cat	gtc	ccc	gag	gtg	cct	agt	tac	cca	gaa	aca	cca	tgg	tac	1488
	Ser	Val	His	Val	Pro	Glu	Val	Pro	Ser	Tyr	Pro	Glu	Thr	Pro	Trp	Tyr	
					485				490						495		
55	cca	gac	aca	ccc	agt	tac	cct	gac	acc	aca	tcc	gtc	tct	tct	acc	act	1536
	Pro	Asp	Thr	Pro	Ser	Tyr	Pro	Asp	Thr	Thr	Ser	Val	Ser	Ser	Thr	Thr	
				500				505						510			
60																	
65																	

ES 2 810 755 T3

gag cta acc agc cct gtg gaa gac tac act gat ctg act acc att cag 1584
 Glu Leu Thr Ser Pro Val Glu Asp Tyr Thr Asp Leu Thr Thr Ile Gln
 515 520 525

5 gtc act gat gac cgc agc gtt tgg ggc atg acc cag gcc cag agc ggg 1632
 Val Thr Asp Asp Arg Ser Val Trp Gly Met Thr Gln Ala Gln Ser Gly
 530 535 540

10 ctg gcc att gcc gcc att gta att ggc att gtc gcc ctg gcc tgc tcc 1680
 Leu Ala Ile Ala Ala Ile Val Ile Gly Ile Val Ala Leu Ala Cys Ser
 545 550 555 560

15 ctg gct gcc tgc gtc ggc tgt tgc tgc tgc aag aag agg agc caa gct 1728
 Leu Ala Ala Cys Val Gly Cys Cys Cys Cys Lys Lys Arg Ser Gln Ala
 565 570 575

15 gtc ctg atg cag atg aag gca ccc aat gag tgt 1761
 Val Leu Met Gln Met Lys Ala Pro Asn Glu Cys
 580 585

20 <210> 3
 <211> 581
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 3

Met Pro Leu Lys His Tyr Leu Leu Leu Leu Val Gly Cys Gln Ala Trp
 1 5 10 15

30 Gly Ala Gly Leu Ala Tyr His Gly Cys Pro Ser Glu Cys Thr Cys Ser
 20 25 30

35 Arg Ala Ser Gln Val Glu Cys Thr Gly Ala Arg Ile Val Ala Val Pro
 35 40 45

40 Thr Pro Leu Pro Trp Asn Ala Met Ser Leu Gln Ile Leu Asn Thr His
 50 55 60

40 Ile Thr Glu Leu Asn Glu Ser Pro Phe Leu Asn Ile Ser Ala Leu Ile
 65 70 75 80

45 Ala Leu Arg Ile Glu Lys Asn Glu Leu Ser Arg Ile Thr Pro Gly Ala
 85 90 95

50 Phe Arg Asn Leu Gly Ser Leu Arg Tyr Leu Ser Leu Ala Asn Asn Lys
 100 105 110

55 Leu Gln Val Leu Pro Ile Gly Leu Phe Gln Gly Leu Asp Ser Leu Glu
 115 120 125

55 Ser Leu Leu Leu Ser Ser Asn Gln Leu Leu Gln Ile Gln Pro Ala His
 130 135 140

60

65

ES 2 810 755 T3

Phe Ser Gln Cys Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gln Leu His Gly Asn His
 145 150 155 160
 5
 Leu Glu Tyr Ile Pro Asp Gly Ala Phe Asp His Leu Val Gly Leu Thr
 165 170 175
 10
 Lys Leu Asn Leu Gly Lys Asn Ser Leu Thr His Ile Ser Pro Arg Val
 180 185 190
 15
 Phe Gln His Leu Gly Asn Leu Gln Val Leu Arg Leu Tyr Glu Asn Arg
 195 200 205
 20
 Leu Thr Asp Ile Pro Met Gly Thr Phe Asp Gly Leu Val Asn Leu Gln
 210 215 220
 25
 Glu Leu Ala Leu Gln Gln Asn Gln Ile Gly Leu Leu Ser Pro Gly Leu
 225 230 235 240
 30
 Phe His Asn Asn His Asn Leu Gln Arg Leu Tyr Leu Ser Asn Asn His
 245 250 255
 35
 Ile Ser Gln Leu Pro Pro Ser Val Phe Met Gln Leu Pro Gln Leu Asn
 260 265 270
 40
 Arg Leu Thr Leu Phe Gly Asn Ser Leu Lys Glu Leu Ser Pro Gly Ile
 275 280 285
 45
 Phe Gly Pro Met Pro Asn Leu Arg Glu Leu Trp Leu Tyr Asp Asn His
 290 295 300
 50
 Ile Ser Ser Leu Pro Asp Asn Val Phe Ser Asn Leu Arg Gln Leu Gln
 305 310 315 320
 55
 Val Leu Ile Leu Ser Arg Asn Gln Ile Ser Phe Ile Ser Pro Gly Ala
 325 330 335
 60
 Phe Asn Gly Leu Thr Glu Leu Arg Glu Leu Ser Leu His Thr Asn Ala
 340 345 350
 65
 Leu Gln Asp Leu Asp Gly Asn Val Phe Arg Met Leu Ala Asn Leu Gln
 355 360 365
 Asn Ile Ser Leu Gln Asn Asn Arg Leu Arg Gln Leu Pro Gly Asn Ile
 370 375 380
 Phe Ala Asn Val Asn Gly Leu Met Ala Ile Gln Leu Gln Asn Asn Gln
 385 390 395 400

ES 2 810 755 T3

5 Leu Glu Asn Leu Pro Leu Gly Ile Phe Asp His Leu Gly Lys Leu Cys
 405 410 415
 Glu Leu Arg Leu Tyr Asp Asn Pro Trp Arg Cys Asp Ser Asp Ile Leu
 420 425 430
 10 Pro Leu Arg Asn Trp Leu Leu Leu Asn Gln Pro Arg Leu Gly Thr Asp
 435 440 445
 Thr Val Pro Val Cys Phe Ser Pro Ala Asn Val Arg Gly Gln Ser Leu
 450 455 460
 15 Ile Ile Ile Asn Val Asn Val Ala Val Pro Ser Val His Val Pro Glu
 465 470 475 480
 20 Val Pro Ser Tyr Pro Glu Thr Pro Trp Tyr Pro Asp Thr Pro Ser Tyr
 485 490 495
 25 Pro Asp Thr Thr Ser Val Ser Ser Thr Thr Glu Leu Thr Ser Pro Val
 500 505 510
 Glu Asp Tyr Thr Asp Leu Thr Thr Ile Gln Val Thr Asp Asp Arg Ser
 515 520 525
 30 Val Trp Gly Met Thr Gln Ala Gln Ser Gly Leu Ala Ile Ala Ala Ile
 530 535 540
 35 Val Ile Gly Ile Val Ala Leu Ala Cys Ser Leu Ala Ala Cys Val Gly
 545 550 555 560
 40 Cys Cys Cys Cys Lys Lys Arg Ser Gln Ala Val Leu Met Gln Met Lys
 565 570 575
 Ala Pro Asn Glu Cys
 580
 45 <210> 4
 <211> 1743
 <212> ADN
 <213> Homo sapiens
 50 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1743)
 <400> 4
 55 atg cca ctg aag cat tat ctc ctt ttg ctg gtg ggc tgc caa gcc tgg 48
 Met Pro Leu Lys His Tyr Leu Leu Leu Leu Val Gly Cys Gln Ala Trp
 1 5 10 15
 60
 65

ES 2 810 755 T3

	ggt gca ggg ttg gcc tac cat ggc tgc cct agc gag tgt acc tgc tcc	96
	Gly Ala Gly Leu Ala Tyr His Gly Cys Pro Ser Glu Cys Thr Cys Ser	
	20 25 30	
5	agg gcc tcc cag gtg gag tgc acc ggg gca cgc att gtg gca gtg ccc	144
	Arg Ala Ser Gln Val Glu Cys Thr Gly Ala Arg Ile Val Ala Val Pro	
	35 40 45	
10	acc cct ctg ccc tgg aac gcc atg agc ctg cag atc ctc aac acg cac	192
	Thr Pro Leu Pro Trp Asn Ala Met Ser Leu Gln Ile Leu Asn Thr His	
	50 55 60	
15	atc act gaa ctc aat gag tcc ccg ttc ctc aat atc tca gcc ctc atc	240
	Ile Thr Glu Leu Asn Glu Ser Pro Phe Leu Asn Ile Ser Ala Leu Ile	
	65 70 75 80	
20	gcc ctg agg att gag aag aat gag ctg tgc cgc atc acg cct ggg gcc	288
	Ala Leu Arg Ile Glu Lys Asn Glu Leu Ser Arg Ile Thr Pro Gly Ala	
	85 90 95	
25	ttc cga aac ctg ggc tgc ctg cgc tat ctc agc ctc gcc aac aac aag	336
	Phe Arg Asn Leu Gly Ser Leu Arg Tyr Leu Ser Leu Ala Asn Asn Lys	
	100 105 110	
30	ctg cag gtt ctg ccc atc ggc ctc ttc cag ggc ctg gac agc ctc gag	384
	Leu Gln Val Leu Pro Ile Gly Leu Phe Gln Gly Leu Asp Ser Leu Glu	
	115 120 125	
35	tct ctc ctt ctg tcc agt aac cag ctg ttg cag atc cag ccg gcc cac	432
	Ser Leu Leu Leu Ser Ser Asn Gln Leu Leu Gln Ile Gln Pro Ala His	
	130 135 140	
40	ttc tcc cag tgc agc aac ctc aag gag ctg cag ttg cac ggc aac cac	480
	Phe Ser Gln Cys Ser Asn Leu Lys Glu Leu Gln Leu His Gly Asn His	
	145 150 155 160	
45	ctg gaa tac atc cct gac gga gcc ttc gac cac ctg gta gga ctc acg	528
	Leu Glu Tyr Ile Pro Asp Gly Ala Phe Asp His Leu Val Gly Leu Thr	
	165 170 175	
50	aag ctc aat ctg ggc aag aat agc ctc acc cac atc tca ccc agg gtc	576
	Lys Leu Asn Leu Gly Lys Asn Ser Leu Thr His Ile Ser Pro Arg Val	
	180 185 190	
55	ttc cag cac ctg ggc aac ctc cag gtc ctc cgg ctg tat gag aac agg	624
	Phe Gln His Leu Gly Asn Leu Gln Val Leu Arg Leu Tyr Glu Asn Arg	
	195 200 205	
60	ctc acg gat atc ccc atg ggc act ttt gat ggg ctt gtt aac ctg cag	672
	Leu Thr Asp Ile Pro Met Gly Thr Phe Asp Gly Leu Val Asn Leu Gln	
	210 215 220	
65	gaa ctg gct ctg cag cag aac cag att gga ctg ctc tcc cct ggt ctc	720
	Glu Leu Ala Leu Gln Gln Asn Gln Ile Gly Leu Leu Ser Pro Gly Leu	
	225 230 235 240	
70	ttc cac aac aac cac aac ctc cag aga ctc tac ctg tcc aac aac cac	768
	Phe His Asn Asn His Asn Leu Gln Arg Leu Tyr Leu Ser Asn Asn His	
	245 250 255	
75	atc tcc cag ctg cca ccc agc gtc ttc atg cag ctg ccc cag ctc aac	816
	Ile Ser Gln Leu Pro Pro Ser Val Phe Met Gln Leu Pro Gln Leu Asn	

ES 2 810 755 T3

	260	265	270	
5	cgt ctt act ctc ttt ggg aat tcc ctg aag gag ctc tct ccg ggg atc Arg Leu Thr Leu Phe Gly Asn Ser Leu Lys Glu Leu Ser Pro Gly Ile 275 280 285			864
	ttc ggg ccc atg ccc aac ctg cgg gag ctt tgg ctc tat gac aac cac Phe Gly Pro Met Pro Asn Leu Arg Glu Leu Trp Leu Tyr Asp Asn His 290 295 300			912
10	atc tct tct cta ccc gac aat gtc ttc agc aac ctc cgc cag ttg cag Ile Ser Ser Leu Pro Asp Asn Val Phe Ser Asn Leu Arg Gln Leu Gln 305 310 315 320			960
15	gtc ctg att ctt agc cgc aat cag atc agc ttc atc tcc ccg ggt gcc Val Leu Ile Leu Ser Arg Asn Gln Ile Phe Ile Ser Pro Gly Ala 325 330 335			1008
	ttc aac ggg cta acg gag ctt cgg gag ctg tcc ctc cac acc aac gca Phe Asn Gly Leu Thr Glu Leu Arg Glu Leu Ser Leu His Thr Asn Ala 340 345 350			1056
20	ctg cag gac ctg gac ggg aac gtc ttc cgc atg ttg gcc aac ctg cag Leu Gln Asp Leu Asp Gly Asn Val Phe Arg Met Leu Ala Asn Leu Gln 355 360 365			1104
25	aac atc tcc ctg cag aac aac cgc ctc aga cag ctc cca ggg aat atc Asn Ile Ser Leu Gln Asn Asn Arg Leu Arg Gln Leu Pro Gly Asn Ile 370 375 380			1152
	ttc gcc aac gtc aat ggc ctc atg gcc atc cag ctg cag aac aac cag Phe Ala Asn Val Asn Gly Leu Met Ala Ile Gln Leu Gln Asn Asn Gln 385 390 395 400			1200
30	ctg gag aac ttg ccc ctc ggc atc ttc gat cac ctg ggg aaa ctg tgt Leu Glu Asn Leu Pro Leu Gly Ile Phe Asp His Leu Gly Lys Leu Cys 405 410 415			1248
35	gag ctg cgg ctg tat gac aat ccc tgg agg tgt gac tca gac atc ctt Glu Leu Arg Leu Tyr Asp Asn Pro Trp Arg Cys Asp Ser Asp Ile Leu 420 425 430			1296
	ccg ctc cgc aac tgg ctc ctg ctc aac cag cct agg tta ggg acg gac Pro Leu Arg Asn Trp Leu Leu Asn Gln Pro Arg Leu Gly Thr Asp 435 440 445			1344
40	act gta cct gtg tgt ttc agc cca gcc aat gtc cga ggc cag tcc ctc Thr Val Pro Val Cys Phe Ser Pro Ala Asn Val Arg Gly Gln Ser Leu 450 455 460			1392
45	att atc atc aat gtc aac gtt gct gtt cca agc gtc cat gtc ccc gag Ile Ile Ile Asn Val Asn Val Ala Val Pro Ser Val His Val Pro Glu 465 470 475 480			1440
	gtg cct agt tac cca gaa aca cca tgg tac cca gac aca ccc agt tac Val Pro Ser Tyr Pro Glu Thr Pro Trp Tyr Pro Asp Thr Pro Ser Tyr 485 490 495			1488
50	cct gac acc aca tcc gtc tct tct acc act gag cta acc agc cct gtg Pro Asp Thr Thr Ser Val Ser Ser Thr Thr Glu Leu Thr Ser Pro Val 500 505 510			1536
55	gaa gac tac act gat ctg act acc att cag gtc act gat gac cgc agc			1584

60

65

ES 2 810 755 T3

	Glu Asp Tyr Thr Asp Leu Thr Thr Ile Gln Val Thr Asp Asp Arg Ser	
	515 520 525	
5	gtt tgg ggc atg acc cag gcc cag agc ggg ctg gcc att gcc gcc att Val Trp Gly Met Thr Gln Ala Gln Ser Gly Leu Ala Ile Ala Ala Ile	1632
	530 535 540	
10	gta att ggc att gtc gcc ctg gcc tgc tcc ctg gct gcc tgc gtc ggc Val Ile Gly Ile Val Ala Leu Ala Cys Ser Leu Ala Ala Cys Val Gly	1680
	545 550 555 560	
15	tgt tgc tgc tgc aag aag agg agc caa gct gtc ctg atg cag atg aag Cys Cys Cys Cys Lys Lys Arg Ser Gln Ala Val Leu Met Gln Met Lys	1728
	565 570 575	
20	gca ccc aat gag tgt Ala Pro Asn Glu Cys	1743
	580	
20	<210> 5	
	<400> 5 000	
25	<210> 6	
	<400> 6 000	
30	<210> 7	
	<400> 7 000	
35	<210> 8	
	<400> 8 000	
40	<210> 9	
	<400> 9 000	
45	<210> 10 <211> 5 <212> PRT <213> Secuencia Artificial	
50	<220> <221> fuente <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"	
	<400> 10	
55	Ser Tyr Trp Ile Glu 1 5	
60	<210> 11 <211> 17 <212> PRT <213> Secuencia Artificial	
65	<220> <221> fuente <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"	

ES 2 810 755 T3

<400> 11

Glu Ile Leu Pro Gly Ser Asp Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

5

Asp

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

15

<400> 12

Asp Arg Gly Asn Tyr Arg Ala Trp Phe Gly Tyr
1 5 10

20

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

30

<400> 13

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

35

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

45

<400> 14

Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser
1 5

50

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

55

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

60

<400> 15

Gln Gln Gly Glu Ala Leu Pro Trp Thr
1 5

65

<210> 16

ES 2 810 755 T3

<211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

5 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 16

10 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

15 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

20 Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

25 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Asp Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

30 Lys Asp Arg Ala Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

35 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

40 Ala Arg Asp Arg Gly Asn Tyr Arg Ala Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

45 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 17
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 17

50

55

60

65

ES 2 810 755 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 5 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 10 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gly Ala Val Lys Phe Leu Ile
 35 40 45
 15 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 20 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 25 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Glu Ala Leu Pro Trp
 85 90 95
 30 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 35 <210> 18
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 45 <400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 50 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 55 Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 60 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Asp Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 65

ES 2 810 755 T3

5 Lys Asp Arg Ala Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 10 Ala Arg Asp Arg Gly Asn Tyr Arg Ala Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 15 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 20 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 25 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 30 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205
 35 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 40 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 45 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 50 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 55 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 60
 65

ES 2 810 755 T3

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 5 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 10 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 15 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 20 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 25 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 30 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 35 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 40 Gly Lys
 450
 <210> 19
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 19
 45 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 50 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 20 25 30
 55 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gly Ala Val Lys Phe Leu Ile
 35 40 45
 60 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 65

ES 2 810 755 T3

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 5 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Glu Ala Leu Pro Trp
 85 90 95
 10 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 15 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 20 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 25 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 30 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 35 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 40 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 45 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 20
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 <400> 20
 Asp Tyr Tyr Ile His
 1 5
 50 <210> 21
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 60 <400> 21
 Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
 1 5 10 15
 65 Gly

ES 2 810 755 T3

<210> 22
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 10
 <400> 22
 Gly Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 15
 <210> 23
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 25
 <400> 23
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser Ser Tyr Ser Tyr Met His
 1 5 10 15
 30
 <210> 24
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 40
 <400> 24
 Tyr Ala Ser Ser Leu Glu Ser
 1 5
 45
 <210> 25
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 55
 <400> 25
 Glu Gln Ser Trp Glu Ile Arg Thr
 1 5
 60
 <210> 26
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 65
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 26

ES 2 810 755 T3

1 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 10 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 15 Gly Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 20 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 25 Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Ala Arg Gly Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 35 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 40 <210> 27
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 50 <400> 27
 55 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 60 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
 65 Ser Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 70 Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 75 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 80 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Gln Ser Trp
 85 Glu Ile Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 90 100 105 110
 95 <210> 28
 <211> 449

ES 2 810 755 T3

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 28

10		Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
		1				5					10					15	
		Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Thr	Asp	Tyr
					20					25					30		
15		Tyr	Ile	His	Trp	Val	Lys	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
				35					40					45			
20		Gly	Leu	Val	Tyr	Pro	Tyr	Ile	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Asn	Gln	Lys	Phe
			50					55					60				
25		Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Thr	Ser	Thr	Thr	Thr	Ala	Tyr
		65					70					75					80
30		Met	Glu	Met	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
						85					90					95	

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 810 755 T3

Ala Arg Gly Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

5 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140

10 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160

15 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175

20 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205

25 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220

30 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

35 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

40 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

45 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

50 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

55 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

60

65

ES 2 810 755 T3

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 5 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 10 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 15 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 20 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys
 25 <210> 29
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 35 <400> 29
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 40 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 45 Ser Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 50 Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 55 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 60 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Glu Gln Ser Trp
 85 90 95
 65

ES 2 810 755 T3

Glu Ile Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105 110

5 Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
 115 120 125

10 Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
 130 135 140

15 Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
 145 150 155 160

20 Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
 165 170 175

25 Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
 180 185 190

30 Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
 195 200 205

35 Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 30
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

40 <400> 30

Asn Tyr Trp Met His
 1 5

<210> 31
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

50 <400> 31

Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys His Asn Glu Lys Phe Arg
 1 5 10 15

Gly

<210> 32
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

65 <220>
 <221> fuente

ES 2 810 755 T3

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 32

5 Ser Asp Phe Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 33

<211> 11

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

15 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 33

20 Arg Ala Ser Gln Ser Ser Ser Asn Asn Leu His
1 5 10

<210> 34

<211> 7

25 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

30 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 34

Tyr Val Ser Gln Ser Ile Ser
1 5

35

<210> 35

<211> 9

40 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

45 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 35

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Phe Thr
1 5

50

<210> 36

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

55

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 36

60

65

ES 2 810 755 T3

1 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
 10 Trp Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 15 Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Thr Lys His Asn Glu Lys Phe
 20 Arg Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Glu Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 25 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Ala Arg Ser Asp Phe Gly Asn Tyr Arg Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly
 35 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 <210> 37
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 37
 40 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 45 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ser Ser Asn Asn
 50 Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Val Leu Ile
 55 Lys Tyr Val Ser Gln Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 60 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Phe
 70 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 75
 80
 85
 90
 95
 100
 105
 <210> 38
 <400> 38
 000

ES 2 810 755 T3

<210> 39
 <400> 39
 000
 5
 <210> 40
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 15
 <400> 40
 Asp Tyr Tyr Ile His
 1 5
 20
 <210> 41
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 30
 <400> 41
 Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Ser Ser Tyr Asn Gln Gln Phe Lys
 1 5 10 15
 Gly
 35
 <210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 45
 <400> 42
 Gly Asp Asn Asn Tyr Asp Ala Met Asp Tyr
 1 5 10
 50
 <210> 43
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 60
 <400> 43
 Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser Thr Tyr Asn Tyr Met His
 1 5 10 15
 65
 <210> 44
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>

ES 2 810 755 T3

<221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 44

5 Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser
 1 5

<210> 45
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 45

20 His His Thr Trp Glu Ile Arg Thr
 1 5

<210> 46
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 46

30 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

35 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

40 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Ser Ser Tyr Asn Gln Gln Phe
 50 55 60

45 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

50 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Asp Asn Asn Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

55 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 47
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

ES 2 810 755 T3

<400> 47
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 5
 Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Thr Tyr Asn Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 10
 Lys Leu Leu Val Lys Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
 50 55 60
 15
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
 65 70 75 80
 20
 Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys His His Thr Trp
 85 90 95
 25
 Glu Ile Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 <210> 48
 <400> 48
 000
 30
 <210> 49
 <400> 49
 000
 35
 <210> 50
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 45
 <400> 50
 Ser Tyr Gly Val His
 1 5
 50
 <210> 51
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 <400> 51
 60
 Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met Ser
 1 5 10 15
 <210> 52
 <211> 12
 <212> PRT
 65
 <213> Secuencia Artificial

ES 2 810 755 T3

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

5 <400> 52

His	Met	Ile	Thr	Glu	Asp	Tyr	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10		

<210> 53
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 53

Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	Leu	Leu	Asn	Ser	Arg	Thr	Arg	Lys	Asn	Tyr	Leu
1				5					10					15	

Ala

25 <210> 54
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

30 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 54

Trp	Ala	Ser	Thr	Arg	Glu	Ser
1				5		

<210> 55
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

40 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 55

Lys	Gln	Ser	Tyr	Asn	Leu	Pro	Thr
1				5			

50 <210> 56
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

60 <400> 56

65

ES 2 810 755 T3

1 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 5 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
 10 Gly Val His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 15 Gly Val Ile Trp Ala Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Ser Ala Leu Met
 20 Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Glu Asn Ala Lys Ser Ser Val Tyr Leu
 25 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
 30 Thr His Met Ile Thr Glu Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 35 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 <210> 57
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 57
 40 Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 45 Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
 50 Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
 55 Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
 60 Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
 65 Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
 Ser Tyr Asn Leu Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 <210> 58

ES 2 810 755 T3

<400> 58
 000

5 <210> 59

<400> 59
 000

10 <210> 60
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

20 <400> 60

Asn	Tyr	Trp	Leu	Gly
1				5

<210> 61
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

30 <400> 61

Asp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Gly	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Glu	Lys	Leu	Lys
1				5					10					15	

35 Gly

40 <210> 62
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

50 <400> 62

Trp	Gly	Asp	Lys	Lys	Gly	Asn	Tyr	Phe	Ala	Tyr
1				5					10	

<210> 63
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

55 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

60 <400> 63

Thr	Ala	Ser	Ser	Ser	Val	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Leu	His
1				5					10		

65 <210> 64
 <211> 7
 <212> PRT

ES 2 810 755 T3

<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> fuente
5 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 64

	Ser	Thr	Ser	Asn	Leu	Ala	Ser
	1				5		

10 <210> 65
<211> 8
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

20 <400> 65

	His	Gln	Tyr	His	Arg	Ser	Pro	Thr
	1				5			

25 <210> 66
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 66

Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Leu	Val	Arg	Pro	Gly	Thr
1				5					10					15	

35

Ser	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Asp	Phe	Thr	Asn	Tyr
			20					25					30		

40

Trp	Leu	Gly	Trp	Val	Lys	Gln	Arg	Pro	Gly	His	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile
		35					40					45			

45

Gly	Asp	Ile	Tyr	Pro	Gly	Gly	Gly	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Asn	Glu	Lys	Leu
	50					55						60			

50

Lys	Gly	Lys	Ala	Thr	Leu	Thr	Ala	Asp	Lys	Ser	Ser	Ser	Thr	Ala	Tyr
65					70					75					80

55

Ile	His	Leu	Ile	Ser	Leu	Thr	Ser	Glu	Asp	Ser	Ser	Val	Tyr	Phe	Cys
				85					90					95	

60

Ala	Arg	Trp	Gly	Asp	Lys	Lys	Gly	Asn	Tyr	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	Gln
			100					105					110		

65

Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ala
		115					120

<210> 67
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

ES 2 810 755 T3

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

5 <400> 67
 Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 10 Glu Arg Val Thr Met Thr Cys Thr Ala Ser Ser Ser Val Tyr Ser Ser
 20 25 30
 15 Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Leu Trp
 35 40 45
 Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser
 50 55 60
 20 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
 65 70 75 80
 25 Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr His Arg Ser Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

30 <210> 68

<400> 68
 000

35 <210> 69

<400> 69
 000

40 <210> 70

<211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

45 <220>
 <221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 70

50 Asn Phe Gly Met Asn
 1 5

<210> 71

55 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente

60 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"

<400> 71

65

ES 2 810 755 T3

Trp Ile Asn Leu Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Phe Ala Asp Asp Phe Lys
 1 5 10 15

5 Gly

<210> 72
 <211> 13
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 15 <400> 72

Lys Gly Glu Thr Tyr Tyr Arg Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr
 1 5 10

20 <210> 73
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 25 <400> 73

30 Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Asn Thr His Leu Tyr
 1 5 10 15

<210> 74
 <211> 7
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 40 <400> 74

Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser
 1 5

45 <210> 75
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 50 <400> 75

Met Gln Leu Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

55 <210> 76
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 60 <400> 76

65 <210> 77
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

ES 2 810 755 T3

<400> 76

1 Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
5 5 10 15

5 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ala Ile Thr Asn Phe
20 25 30

10 Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

15 Gly Trp Ile Asn Leu Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Phe Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

20 Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Val Ile Tyr Phe Cys
85 90 95

25 Ala Arg Lys Gly Glu Thr Tyr Tyr Arg Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120

30

<210> 77

<211> 112

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

35

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

40

<400> 77

1 Asp Ile Val Met Thr Gln Ala Ala Pro Ser Val Pro Val Thr Pro Gly
5 10 15

45 Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

50 Asn Gly Asn Thr His Leu Tyr Trp Phe Leu Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Met Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

55 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

60 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Leu
85 90 95

Leu Glu Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Glu
100 105 110

65

<210> 78

<400> 78
 000
 5 <210> 79
 <400> 79
 000
 10 <210> 80
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 20 <400> 80
 Gly Phe Leu Gly
 1
 25 <210> 81
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 35 <400> 81
 Ala Leu Ala Leu
 1
 40 <210> 82
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: péptido sintético"
 <400> 82
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15
 50 <210> 83
 <400> 83
 000
 <210> 84
 55 <400> 84
 000
 <210> 85
 60 <400> 85
 000
 <210> 86
 65 <400> 86
 000

ES 2 810 755 T3

5 <210> 87
<400> 87
000

10 <210> 88
<400> 88
000

15 <210> 89
<400> 89
000

20 <210> 90
<400> 90
000

25 <210> 91
<211> 448
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

30 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

35 <400> 91

40

45

50

55

60

65

ES 2 810 755 T3

1 Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr
 10 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 15 Gly Trp Val Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 20 Lys Gly Arg Leu Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 25 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Thr Arg Glu Gly Glu Gly Leu Gly Phe Gly Asp Trp Gly Gln Gly Thr
 35 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 40 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 45 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 50 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 55 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 60 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 65 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

ES 2 810 755 T3

5 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 10 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 15 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 20 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 25 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 30 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 35 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 40 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 45 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 50 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 92
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 60 <400> 92
 65

ES 2 810 755 T3

1 Glu Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 5 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr
 10 Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val
 15 Gly Trp Val Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
 20 Lys Gly Arg Leu Thr Phe Thr Leu Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 25 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 30 Thr Arg Glu Gly Glu Gly Leu Gly Phe Gly Asp Trp Gly Gln Gly Thr
 35 Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 40 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 45 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 50 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 55 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 60 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 65 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

ES 2 810 755 T3

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 5 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 10 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 15 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 20 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 25 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 30 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 35 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 40 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 45 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400
 50 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 55 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 60 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 93

<211> 219

<212> PRT

50 <213> Secuencia Artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

55 <400> 93

60

65

ES 2 810 755 T3

	Asp	Val	Val	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Leu	Ser	Leu	Pro	Val	Thr	Pro	Gly
	1				5					10					15	
5	Glu	Pro	Ala	Ser	Ile	Ser	Cys	Arg	Ser	Ser	Gln	Ser	Ile	Val	His	Ser
				20					25					30		
10	His	Gly	Asp	Thr	Tyr	Leu	Glu	Trp	Tyr	Leu	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ser
			35					40					45			
15	Pro	Gln	Leu	Leu	Ile	Tyr	Lys	Val	Ser	Asn	Arg	Phe	Ser	Gly	Val	Pro
		50					55					60				
20	Asp	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Lys	Ile
	65					70					75					80
25	Ser	Arg	Val	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Gly	Val	Tyr	Tyr	Cys	Phe	Gln	Gly
					85					90					95	
30	Ser	His	Ile	Pro	Val	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys
				100					105					110		
35	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu
			115					120					125			
40	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe
		130					135					140				
45	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln
	145					150					155					160
50	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser
					165					170					175	
55	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu
				180					185					190		
60	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser
			195					200					205			
65	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys					
		210					215									
	<210>	94														
	<400>	94														
	000															
55	<210>	95														
	<400>	95														
	000															
60	<210>	96														
	<400>	96														
	000															
65	<210>	97														

ES 2 810 755 T3

<400> 97
000

5 <210> 98

<400> 98
000

10 <210> 99

<400> 99
000

15 <210> 100
<211> 450
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20 <220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 100

25 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

30 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

35 Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

40 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Asp Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

45 Lys Asp Arg Ala Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

50 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

55

60

65

ES 2 810 755 T3

Ala Arg Asp Arg Gly Asn Tyr Arg Ala Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

5 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125

10 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140

15 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

20 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

25 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

30 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
 195 200 205

35 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220

40 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240

45 Pro Cys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255

50 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270

55 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285

60 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300

65 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320

70 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335

75 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

ES 2 810 755 T3

340 345 350

5 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

10 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

15 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

20 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

25 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

30 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

35 Gly Lys
450

<210> 101
<211> 449
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 101

40 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

45 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

50 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

55 Gly Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

60 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

65 Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

ES 2 810 755 T3

					85						90					95
5	Ala	Arg	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Asp	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
				100					105					110		
	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
10	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
		130					135					140				
15	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
20					165					170					175	
	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185						190	
25	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
30		210					215					220				
	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
	225					230					235					240
35	Cys	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					245					250					255	
40	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
				260					265						270	
	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
45			275					280					285			
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
		290					295					300				
50	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
	305					310					315					320
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
55				325						330					335	

ES 2 810 755 T3

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

5 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

10 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

15 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

20 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

25 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

30 Lys
 <210> 102
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

35 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

40 <400> 102
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

45 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

50 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Asp Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

55 Lys Asp Arg Ala Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

60

65

ES 2 810 755 T3

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

5 Ala Arg Asp Arg Gly Asn Tyr Arg Ala Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

10 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

15 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

20 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

25 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

30 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

35 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

40 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

45 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

50 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

55 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

60

65

ES 2 810 755 T3

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 5 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 10 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 15 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 20 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 25 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 30 Gly Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 35 Gly
 <210> 103
 <211> 449
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 103
 40 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 45 Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 50 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Ser Asp Thr Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 55 Lys Asp Arg Ala Thr Phe Thr Ser Asp Thr Ser Ile Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 60
 65

ES 2 810 755 T3

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

5 Ala Arg Asp Arg Gly Asn Tyr Arg Ala Trp Phe Gly Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

10 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

15 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

20 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

25 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

30 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

35 Pro Cys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

40 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

45 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

50 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

55 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

60

65

ES 2 810 755 T3

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 5 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 10 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 15 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 20 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 25 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 30 Gly Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 35 Gly
 <210> 104
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 104
 40 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 45 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 50 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 55 Gly Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60
 60 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 65

ES 2 810 755 T3

Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

5 Ala Arg Gly Asp Asn Lys Tyr Asp Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

10 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

15 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

20 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

25 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

30 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

35 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

40 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

45 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

50 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

55 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

60 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

65 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

70 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

75 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

ES 2 810 755 T3

325 330 335

5 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

10 Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

15 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

20 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

25 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

30 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

35 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 105
<211> 448
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<221> fuente
<223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"

<400> 105

40 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

45 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

50 Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

55 Gly Leu Val Tyr Pro Tyr Ile Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

60 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Thr Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

65 Met Glu Met Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

ES 2 810 755 T3

					85						90					95
5	Ala	Arg	Gly	Asp	Asn	Lys	Tyr	Asp	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
				100					105					110		
	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			115					120					125			
10	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
		130					135					140				
15	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
	145					150					155					160
	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
20					165					170					175	
	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180					185					190		
25	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro
			195					200					205			
	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys
30		210					215					220				
	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
	225					230					235					240
35	Cys	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser
					245					250					255	
40	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp
				260					265					270		
	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn
45			275					280					285			
	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val
		290					295					300				
50	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu
	305					310					315					320
	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys
55				325						330					335	

ES 2 810 755 T3

	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr
				340					345					350		
5	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr
			355					360					365			
10	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu
		370					375					380				
15	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu
	385					390					395					400
20	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys
					405					410					415	
25	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu
				420					425					430		
30	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
			435					440					445			
35	<210>	106														
40	<400>	106														
		000														
45	<210>	107														
	<400>	107														
		000														
50	<210>	108														
	<400>	108														
		000														
55	<210>	109														
	<400>	109														
		000														
60	<210>	110														
	<211>	214														
	<212>	PRT														
	<213>	Secuencia Artificial														
65	<220>															
	<221>	fuelle														
	<223>	/nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"														
	<400>	110														

ES 2 810 755 T3

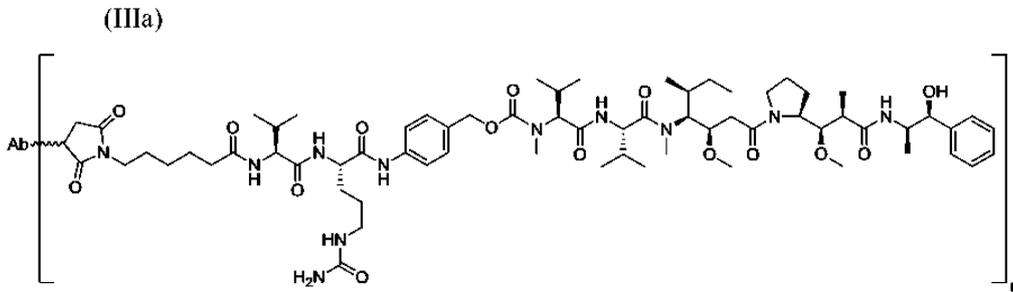
1 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 5 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 10 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gly Ala Val Lys Phe Leu Ile
 15 Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 20 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 25 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Glu Ala Leu Pro Trp
 30 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 35 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 40 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 45 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 50 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 55 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 60 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 65 Phe Asn Arg Gly Glu Ala
 <210> 111
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <221> fuente
 <223> /nota="Descripción de secuencia artificial: polipéptido sintético"
 <400> 111

ES 2 810 755 T3

	Asp	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Asp	Ser	Leu	Ala	Val	Ser	Leu	Gly
	1				5				10						15	
5	Glu	Arg	Ala	Thr	Ile	Asn	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Ser	Val	Ser	Thr	Ser
				20					25					30		
10	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Met	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Pro	Pro
			35					40					45			
15	Lys	Leu	Leu	Ile	Lys	Tyr	Ala	Ser	Ser	Leu	Glu	Ser	Gly	Val	Pro	Asp
		50					55					60				
20	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser
	65					70					75					80
25	Ser	Leu	Gln	Ala	Glu	Asp	Val	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Glu	Gln	Ser	Trp
					85					90					95	
30	Glu	Ile	Arg	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr
				100					105					110		
35	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
			115					120					125			
40	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
		130					135					140				
45	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
	145					150					155					160
50	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
					165					170					175	
55	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
				180					185					190		
60	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
			195					200					205			
65	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Ala							
	210						215									

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado de fármaco-anticuerpo anti-huLRRC15 ("ADC") que comprende un agente antimitótico unido a un anticuerpo anti-huLRRC15 por medio de un conector, en donde el ADC tiene una estructura de fórmula (IIIa):



en donde:

n es un número entero que varía de 2 a 8;

Ab es un anticuerpo anti-huLRRC15 que comprende

una cadena V_H que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 16; y

una cadena V_L que comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 17.

2. El ADC de la **reivindicación 1** en donde n es 2.
3. El ADC de la **reivindicación 1** en donde el anticuerpo **Ab** está unido al conector mediante un enlace tioéter formado con un grupo sulfhidrido en el anticuerpo **Ab**.
4. El ADC de la **reivindicación 1** en donde **Ab** es una IgG₁.
5. El ADC de la **reivindicación 3** en donde **Ab** comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 o 102; y una cadena ligera de la SEQ ID NO: 19 y en donde n es 2.

isoforma 1 de huLRRIC15 (acceso NCBI: NP_001128529, RefSeq: NM_001135057.2)

1 **M P L D K A M P L K H Y L L L L L V G C Q**
 ATG CCT TTG GAC AAG GCT ATG CCA CTG AAG CAT TAT CTC CTT TTG CTG GTG GGC TGC CAA
 61 **A W G A G L A Y H G C P S E C T C S R A**
 GCC TGG GGT GCA GGG TTG GCC TAC CAT GGC TGC CCT AGC GAG TGT ACC TGC TCC AGG GCC
 S Q CAG VTG GAG TGC ACC GGG GCA CGC ATT GTG GCA GTG CCC ACC CCT CTG CCC TGG AAC
 121 **A M S L Q I L N T H I T E L N E S P F L**
 GCC ATG AGC CTG CAG ATC CTC AAC ACG CAC ATC ACT GAA CTC AAT GAG TCC CCG TTC CTC
 181 **N I S A L I A L R I E K N E L S R I T P**
 AAT ATC TCA GCC CTC ATC GCC CTG AGG ATT GAG AAG AAT GAG CTG TCG CGC ATC ACG CCT
 G A F R N L G S L R Y L S L A N N K L Q
 301 **GGG GCC TTC CGA AAC CTG GGC TCG CTG CGC TAT CTC AGC CTC GCC AAC AAC AAG CTG CAG**
 V L P I G L F Q G L D S L E S L L S S
 361 **GTT CTG CCC ATC GGC CTC TTC CAG GGC CTG GAC AGC CTC GAG TCT CTC CTT CTG TCC AGT**
 N Q L L Q I Q P A H F S Q C S N L K E L
 421 **AAC CAG CTG TTG CAG ATC CAG CCG GCC CAC TTC TCC CAG TGC AGC AAC CTC AAG GAG CTG**
 Q L H G N H L E Y I P D G A F D H L V G
 481 **CAG TTG CAC GGC AAC CAC CTG GAA TAC ATC CCT GAC GGA GCC TTC GAC CAC CTG GTA GGA**
 L T K L N L G K N S L T H I S P R V F Q
 541 **CTC ACG AAG CTC AAT CTG GGC AAG AAT AGC CTC ACC CAC ATC TCA CCC AGG GTC TTC CAG**
 H L G N L Q V L R L Y E N R L T D I P M
 601 **CAC CTG GGC AAC CTC CAG GTC CTC CGG CTG TAT GAG AAC AGG CTC ACG GAT ATC CCC ATG**
 G T F D G L V N L Q E L A L Q Q N Q I G
 661 **GGC ACT TTT GAT GGG CTT GTT AAC CTG CAG GAA CTG GCT CTG CAG CAG AAC CAG AAT GGA**
 L L S P G L F H N N H N L Q R L Y L S N
 721 **CTG CTC TCC CCT CAG CTG CCA CCC AGC GTC TTC ATG CAG CTG CCC CAG CTC TAC CTG TCC AAC**
 N H I S Q L P S V F M Q L P Q L N R L
 781 **AAC CAC ATC TCC CAG CTG CCA CCC AGC GTC TTC ATG CAG CTG CCC CAG CTC AAC CGT CTT**
 T L F G N S L K E L S P G I F G P M P N
 841 **ACT CTC TTT GGG AAT TCC CTG AAG GAG CTC TCT CCG GGG ATC TTC GGG CCC ATG CCC AAC**
 L R E L W L Y D N H I S L P D N V F S
 901 **CTG CGG GAG CTT TGG CTC TAT GAC AAC CAC ATC TCT TCT CTA CCC GAC AAT GTC TTC AGC**
 N L R Q L Q V L I L S R N Q I S F I S P
 961 **AAC CTC CGC CAG TTG CAG GTC ATG ATT CTT AGC CGC AAT CAG ATC AGC TTC ATC TCC CCG**

FIGURA 1A

1021 GGT GCC TTC AAC GGG CTA ACG GAG CTT CGG GAG CTG TCC CTC CAC ACC AAC GCA CTG CAG
 D L D G N V F R M L A N L Q N I S L Q N
 1081 GAC CTG GAC GGG AAC GTC TTC CGC ATG TTG GCC AAC CTG CAG AAC ATC TCC CTG CAG AAC
 N R L R Q L P G N I F A N V N G L M A I
 1141 AAC CGC CTC AGA CAG CTC CCA GGG AAT ATC TTC GCC AAC GTC AAT GGC CTC ATG GCC ATC
 Q L Q N N Q L E N L P L G I F D H L G K
 1201 CAG CTG CAG AAC AAC CAG CTG GAG AAC TTG CCC CTC GGC ATC TTC GAT CAC CTG GGG AAA
 L C E L R L Y D N P W R C D S D I L P L
 1261 CTG TGT GAG CTG CGG CTG TAT GAC AAT CCC TGG AGG TGT GAC TCA GAC ATC CTT CCG CTC
 R N W L L L N Q P R L G T D F V P V C F
 1321 CGC AAC TGG CTC CTG AAC CAG CCT AGG TTA GGG ACG GAC ACT GTA CCT GTG TGT TTC
 S P A N V R G Q S L I I N V N V A V P
 1381 AGC CCA GCC AAT GTC CGA GGC CAG TCC CTC ATT ATC ATC AAC GTC AAC GTT GCT GTT CCA
 S V H V P E V P S Y P E T P W Y P D T P
 1441 AGC GTC CAT GTC CCC GAG GTG CCT AGT TAC CCA GAA ACA CCA TGG TAC CCA GAC ACA CCC
 S Y P D T T S V S T T E L F S P V E D
 1501 AGT TAC CCT GAC ACC ACA TCC GTC TCT TCT ACC ACT GAG CTA ACC AGC CCT GTG GAA GAC
 Y T D L T T I Q V T D D RS V W G M T Q
 1561 TAC ACT GAT CTG ACT ACC ATT CAG GTC ACT GAT GAC CGC AGC GGT TGG GGC ATG ACC CAG
 A Q S G L A I A A I V I G I V A L A C S
 1621 GCC CAG AGC GGG CTG GCC ATT GCC C C C C C K R S Q A V L M Q
 L A A C V G C C C C C C K R S Q A V L M Q
 1681 CTG GCT GCC TGC GTC GGC TGT TGC TGC AAG AAG AGG AGC CAA GCT GTC CTG ATG CAG
 M K A P N E C (SEQ ID NO:1)
 1741 ATG AAG GCA CCC AAT GAG TGT (SEQ ID NO:2)

Leyenda:

el péptido señal predicho se presenta en *negrita y cursiva*
 el dominio transmembranal previsto se presenta subrayado el sitio de
 escisión proteolítica previsto se presenta encuadrado

FIGURA 1B

isoforma 2 de huLRRRC15 (acceso NCBI: NP_570843, RefSeq; NM_130830.4)

1 M P L K H Y L L L L L V G C Q A W A G L
 ATG CCA CTG AAG CAT TAT CTC CTT TTG CTG GTG GGC TGC CAA GCC TGG GGT GCA GGG TTG
 61 A Y H G C P S E C T C S R A S Q V E C T
 GCC TAC CAT GGC TGC CCT AGC GAG TGT ACC TGC TCC AGG GCC TCC CAG GTG GAG TGC ACC
 G A R I V A V P T P L P W N A M S L Q I
 121 L N T H I T E L N E S P F L N I S A L I
 GGG GCA CGC ATT GTG GCA GTG CCC ACC CCT CTG CCC TGG AAC GCC ATG AGC CTG CAG ATC
 CTC AAC ACG CAC ATC ACT GAA CTC AAT GAG TCC CCG TTC CTC AAT ATC TCA GCC CTC ATC
 181 A L R I E K N E L S R I T P G A F R N L
 GCC CTG AGG ATT GAG AAG AAT GAG CTG TCG CGC ATC ACG CCT GGG GCC TTC CGA AAC CTG
 G S L R Y L S L A N N K L Q V L P I G L
 301 GGC TCG CTG CGC TAT CTC AGC CTC GCC AAC AAC AAG CTG CAG GTT CTG CCC ATC GGC CTC
 F Q G L D S L E S L L S S N Q L L Q I
 361 TTC CAG GGC CTG GAC AGC CTC GAG TCT CTC CTT CTG TCC AGT AAC CAG CTG TTG CAG ATC
 Q P A H F S Q C S N L K E L Q L H G N H
 421 CAG CCG GCC CAC TTC TCC CAG TGC AGC AAC CTC AAG GAG CTG CAG TTG CAC GGC AAC CAC
 L E Y I P D G A F D H L V G L T K L N L
 481 CTG GAA TAC ATC CCT GAC GGA GCC TTC GAC CAC CTG GTA GGA CTC ACG AAG CTC AAT CTG
 G K N S L T H I S P R V F Q H L G N L Q
 541 GGC AAG AAT AGC CTC ACC CAC ATC TCA CCC AGG GTC TTC CAG CAC CTG GGC AAC CTC CAG
 V L R L Y E N R L T D I P M G T F D G L
 601 GTC CTC CGG CTG TAT GAG AAC AGG CTC ACG GAT ATC CCC ATG GGC ACT TTT GAT GGG CTT
 V N L Q E L A L Q Q N Q I G L L S P G L
 661 GTT AAC CTG CAG GAA CTG GCT CTG CAG CAG AAC CAG AAT GGA CTG CTC TCC CCT GGT CTC
 F H N N H N L Q R L Y L S N N H I S Q L
 721 TTC CAC AAC AAC CAC AAC CTC CAG AGA CTC TAC CTG TCC AAC AAC CAC ATC TCC CAG CTG
 P P S V F M Q L P Q L N R L T L F G N S
 781 CCA CCC AGC GTC TTC ATG CAG CTG CCC CAG CTC AAC CGT CTT ACT CTC TTT GGG AAT TCC
 L K E L S P G I F G P M P N L R E L W L
 841 CTG AAG GAG CTC TCT CCG GGG ATC TTC GGG CCC ATG CCC AAC CTG CGG GAG CTT TGG CTC
 Y D N N H I S S L P D N V F S N L R Q L Q
 901 TAT GAC AAC CAC ATC TCT TCT CTA CCC GAC AAT GTC TTC AGC AAC CTC CGC CAG TTG CAG
 V L I L S R N Q I S F I S P G A F N G L
 961 GTC CTG ATT CTT AGC CGC AAT CAG ATC AGC TTC ATC TCC CCG GGT GCC TTC AAC GGG CTA

FIGURA 1C

```

T E L R E L S L H T N A L Q D L D G N V
1021 ACG GAG CTT CGG GAG CTG TCC CTC CAC ACC AAC GCA GAA CTG CAG GAC CTG GAC GGG AAC GTC
F R M L A N L Q N I S L Q N N R L R Q L
1081 TTC CGC ATG TTG GCC AAC CTG CAG AAC ATC TCC CTG CAG AAC AAC CGC CTC AGA CAG CTC
P G N I F A N V N G L M A I Q L Q N N Q
1141 CCA GGG AAT ATC TTC GCC AAC GTC AAT GGC CTC ATG GCC ATC CAG CTG CAG AAC AAC CAG
L E N L P L G I F D H L G K L C E L R L
1201 CTG GAG AAC TTG CCC CTC GGC ATC TTC GAT CAC CTG GGG AAA CTG TGT GAG CTG CGG CTG
Y D N P W R C D S D I L P L R N W L L
1261 TAT GAC AAT CCC TGG AGG TGT GAC TCA GAC ATC CTT CCG CTC CGC AAC TGG CTC CTG CTC
N Q P R L G T D T V P V C F S P A N V R
1321 AAC CAG CCT AGG TTA GGG ACG GAC ACT GTA CCT GTG TGT TTC AGC CCA GCC AAT GTC CGA
G Q S L I I N V A V P S V H V P E
1381 GGC CAG TCC ATC ATC ATC ATC GTC AAC GTT GCT GAT CCA AGC GTC CAT GTC CCC GAG
V P S Y P E T P W Y P D T P S Y P D T T
1441 GTG CCT AGT TAC CCA GAA ACA CCA TGG TAC CCA GAC ACA CCC AGT TAC CCT GAC ACC ACA
S V S S T T E L T S P V E D Y T D L T T
1501 TCC GTC TCT TCT ACC ACT GAG CTA ACC AGC CCT GTG GAA GAC TAC ACT GAT CTG ACT ACC
I Q V T D D RS V W G M T Q A Q S G L A
1561 APT CAG GTC ACT GAT GAC CGC AGC GTT TGG GGC ATG ACC CAG GCC CAG AGC GGG CTG GCC
I A A I V I G I V A L A C S L A A C V G
1621 APT GCC GCC APT GTA APT GGC APT GTC GCC CTG GCC TGC TCC CTC CTG GCT GCC TGC GTC GGC
C C C C K R S Q A V L M Q M K A P N E
1681 TGT TGC TGC TGC AAG AAG AGG AGC CAA GCT GTC CTG ATG CAG ATG AAG GCA CCC AAT GAG
C (SEQ ID NO:3)
1741 TGT (SEQ ID NO:4)

```

Leyenda:
 el péptido señal predicho se presenta en *negrita y cursiva*
 el dominio transmembranal previsto se presenta subrayado el sitio de
 escisión proteolítica previsto se presenta en cuadrado

FIGURA 1D

Cadenas V_H de anticuerpo anti-huLRRc15 ilustrativas

	1	2	3	4	5	6	7	8
huM25	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
	<u>EVQLVQSGAE</u>	<u>VKKPGASVKV</u>	<u>SCKASGYKFS</u>	<u>SYWIEWVKQA</u>	<u>PGQGLEWIGE</u>	<u>ILPGSDTTNYN</u>	<u>EKFKDRATFT</u>	<u>SDTSINTAYM</u>
huAD208.4.1	<u>EVQLVQSGAE</u>	<u>VKKPGSSVKV</u>	<u>SCKASGFTFT</u>	<u>DYIHHVVKQA</u>	<u>PGQGLEWIGL</u>	<u>VYPYIGGTNYN</u>	<u>QKFKGKATLT</u>	<u>VDTSITTAYM</u>
huAD208.12.1	<u>EVQLVQSGAE</u>	<u>VKKPGSSVKV</u>	<u>SCKASGYTFT</u>	<u>NMMHHVVKQA</u>	<u>PGQGLEWIGM</u>	<u>IHPNSGSTKHN</u>	<u>EKFRGKATLT</u>	<u>VDESTTTAYM</u>
huAD208.14.1	<u>EVQLVQSGAE</u>	<u>VKKPGSSVKV</u>	<u>SCKASGFTFT</u>	<u>DYIHHVVKQA</u>	<u>PGQGLEWIGL</u>	<u>VYPYIGGSSYN</u>	<u>QKFKGKATLT</u>	<u>VDTSSTAYM</u>
hu139.10	<u>EVQLVESGGG</u>	<u>LVQPGGSLRL</u>	<u>SCAVSGFSLT</u>	<u>SYGVHWVRQA</u>	<u>TGKGLEWLVG</u>	<u>IW--AGGSTNYN</u>	<u>SALMSRLTIS</u>	<u>KENAKSSVYL</u>
muAD210.40.9	<u>QVQLQQSGAE</u>	<u>LVRPGTSVKI</u>	<u>SCKASGYDFT</u>	<u>NYWLGWVKQR</u>	<u>PGHGLEWIGD</u>	<u>IYPGGNTIYN</u>	<u>EKLKGGKATLT</u>	<u>ADKSSSTAYI</u>
muAD209.9.1	<u>QIQLVQSGPE</u>	<u>LKKPGETVKI</u>	<u>SCKASGFAIT</u>	<u>NFGMHWVKQA</u>	<u>PGKGLKHWGM</u>	<u>INLYTGEPTFA</u>	<u>DDFKGRFAFS</u>	<u>LETSASTAYL</u>

	1	1
9	0	1
huM25	<u>12abc34567890</u>	<u>1234567890 abcde1234567890 123</u>
huAD208.4.1	<u>ELSRLRSDDTAVY</u>	<u>YCARDRGNYR AWF---GYWQQGTLVTVT VSS (SEQ ID NO:16)</u>
huAD208.12.1	<u>ELSSLRSEDVAVY</u>	<u>YCARDGDKYD AM---DYWQQGTTVT VSS (SEQ ID NO:26)</u>
huAD208.14.1	<u>ELSSLRSEDVAVY</u>	<u>YCARSDFGNY RWYF-DVWQQGTTVT VSS (SEQ ID NO:36)</u>
hu139.10	<u>ELSSLRSEDVAVY</u>	<u>YCARDGNNYD AM---DYWQQGTTVT VSS (SEQ ID NO:46)</u>
muAD210.40.9	<u>QMNSLRAGDTAMY</u>	<u>YCATHIMITED YYGM-DYWQQGTTVT VSS (SEQ ID NO:56)</u>
muAD209.9.1	<u>HLISLTSIEDSSVY</u>	<u>FCARWGDKKG NYF---AYWQQGTLVTVT VSA (SEQ ID NO:66)</u>
	<u>QINNLKNETVIY</u>	<u>FCARKGETYY RYDGFAYWQQGTLVTVT VSA (SEQ ID NO:76)</u>

FIGURA 2A

Leyenda:

Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) se presentan subrayadas

Cadenas V_L de anticuerpo anti-huLRRC15 ilustrativas

	1	2	3	4	5	6	7		
huM25	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890		
huAD208.4.1	DIQMTQSPSS	LSASVGD	RVIT	ITCRASQ	-----DIS	NYLNWYQQK	GGAVKFLIYY	<u>TSRLHS</u> GVPS	RFSGSGSGTD
huAD208.12.1	DIVLTQSPDS	LAVSLGERAT	INCRASQSVST	--SSY	SYMHWYQQK	QPPKLLIKY	<u>ASSLES</u> GVPD	RFSGSGSGTD	
huAD208.14.1	DIQMTQSPDS	LAVSLGERAT	INCRASQSVST	-----SSS	NNLHWYQQK	QQAPRVLIKY	<u>VSQISG</u> IPA	RFSGSGSGTD	
hu139.10	DIVLTQSPDS	LAVSLGERAT	ISCRASQSVST	--STY	NIMHWYQQK	QPPKLLVKY	<u>ASNLES</u> GVPD	RFSGSGSGTD	
muAD210.40.9	QIVLTQSPAI	MSASLGERVT	MTC	TASSS	-----VYS	SYLHWYQQK	GSSPKLWIYS	<u>TSNLAS</u> GVPG	RFSGSGSGTS
muAD209.9.1	DIVMTQAAPS	VPVTPGESVS	ISCRSSKSLLLHS	-NGN	THLYWFLQRP	QOSPQLLIYR	<u>MSNLAS</u> GVPD	RFSGSGSGTA	

	1	2	3	4	5	6	7
huM25	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890
huAD208.4.1	YTLTISSLQP	EDFATYFCQQ	GEALPWF	TFGG	GTKVEIK	(SEQ ID NO:17)	
huAD208.12.1	FILTISSLQA	EDVAVYYCEQ	SWEI	-RT	TFGG	GTKVEIK	(SEQ ID NO:27)
huAD208.14.1	FILTISSLEP	EDFVAVYFCQQ	SNSWPT	TFGQ	GTKLEIK	(SEQ ID NO:37)	
hu139.10	FILTISSLQA	EDVAVYYCHH	TWEI	-RT	TFGG	GTKVEIK	(SEQ ID NO:47)
muAD210.40.9	FILTISSLQA	EDVAVYYCKQ	SYNL	-PT	TFGG	GTKVEIK	(SEQ ID NO:57)
muAD209.9.1	FILTISSSMEA	EDAATYYCHQ	YHRS	-PT	TFGG	GTKLEIK	(SEQ ID NO:67)
	FILTRISRVEA	EDVGVYYCMQ	LLEYP	TF	TFGG	GTKLEIE	(SEQ ID NO:77)

FIGURA 2B

Leyenda:
 Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) se presentan subrayadas

Cadena pesada del anticuerpo huM25 (SEQ ID NO: 18)

EVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYKFS SYWIEWVKQA PGQGLEWIGE ILPGSDTNY 60
NEKFKDRATF TSDTSINTAY MELSRLRSDD TAVYYCARDR GNYRAWFGYW GQGLTIVTVSS 120
 ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTPPAVLQSS 180
 GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHNKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG 240
 PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN 300
 STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE 360
 MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW 420
 QQGNVFPSCSV MHEALBNHYT QKSLSLSPGK 450

Leyenda:

Regiones determinantes de complementariedad (CDR) de la cadena pesada se presentan subrayados F_c gamma (γ) se presenta en *cursiva*

FIGURA 3A

Cadena pesada del anticuerpo huM25 (SEQ ID NO: 19)

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDIS NYLNWYQOKP GGAVKFLIYY TSRLHSGVPS 60
 RFSGSGSGTD YTLTISSLQP EDFATYFCQQ GEALPWTFFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP 120
 SDEQLKSGTA SVVCLLNPFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ *ESVTEQDSKD STYLSSTLT* 180
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSPN RGEN

Leyenda:

Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) se presentan subrayadas la cadena ligera kappa (κ) se presenta en *cursiva*

FIGURA 3B

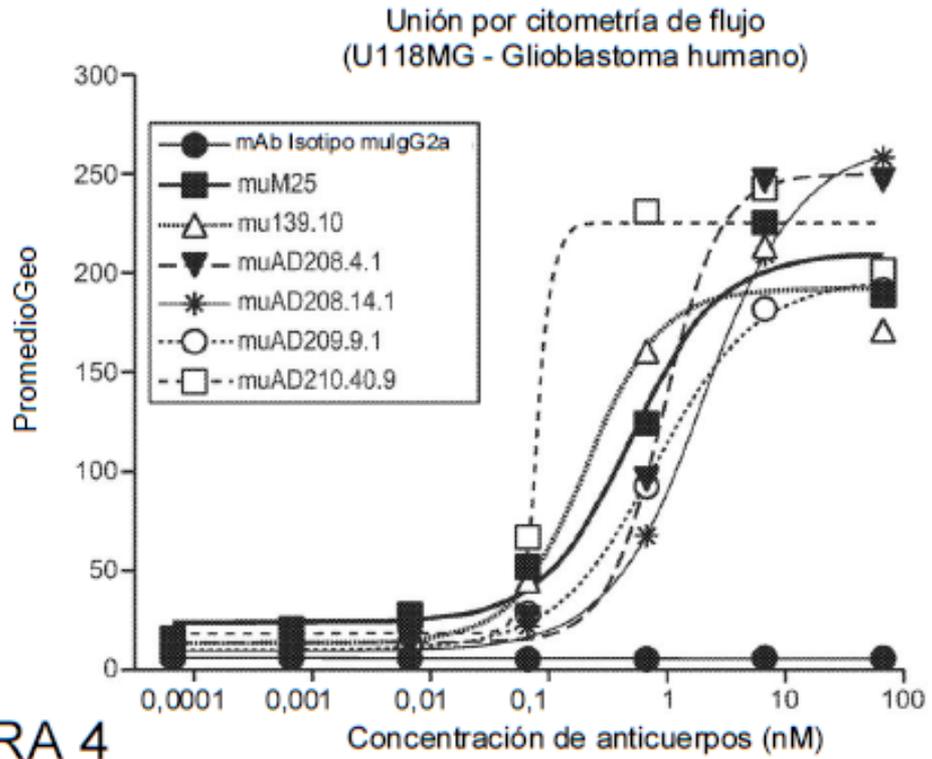


FIGURA 4

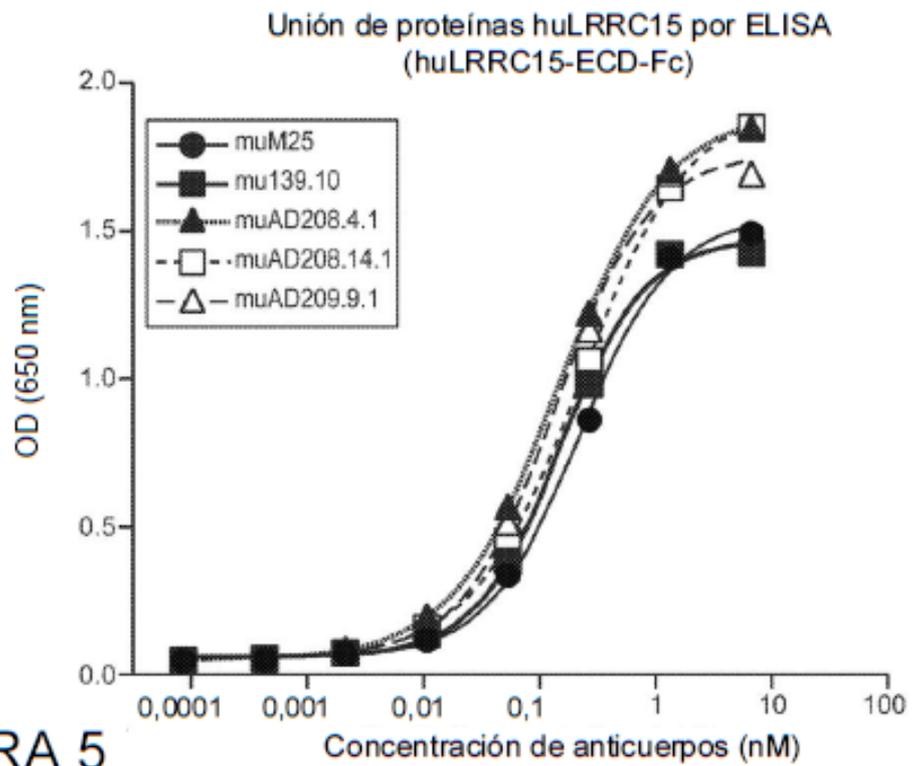


FIGURA 5

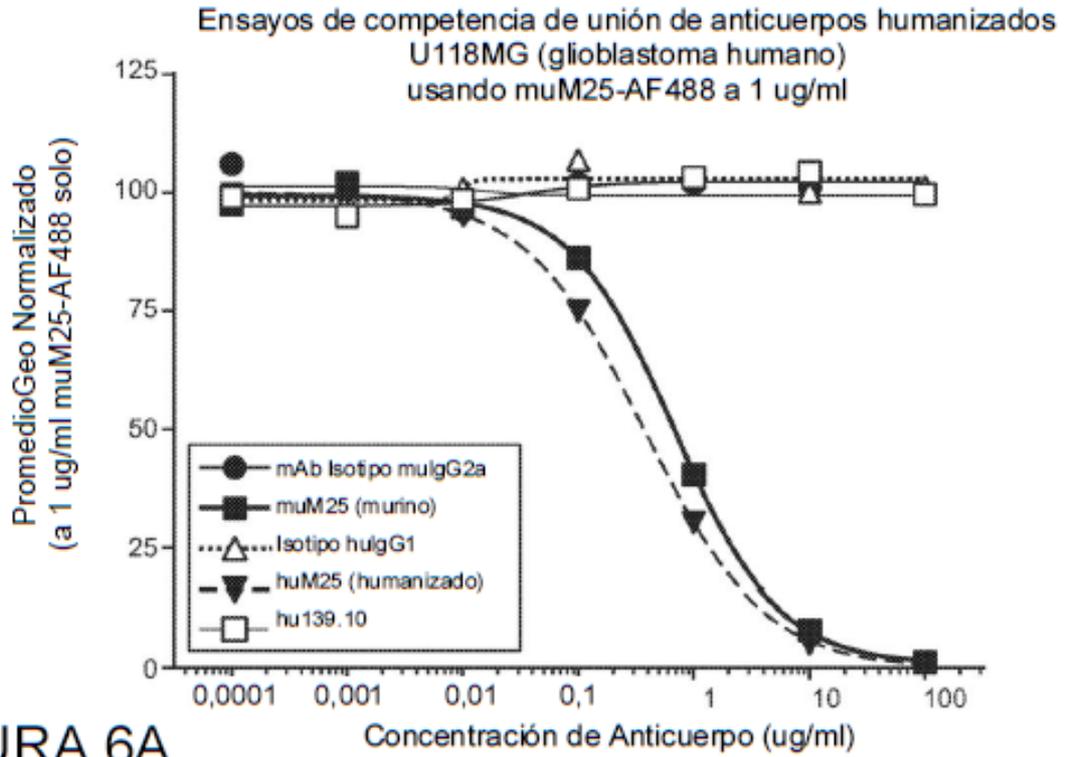


FIGURA 6A

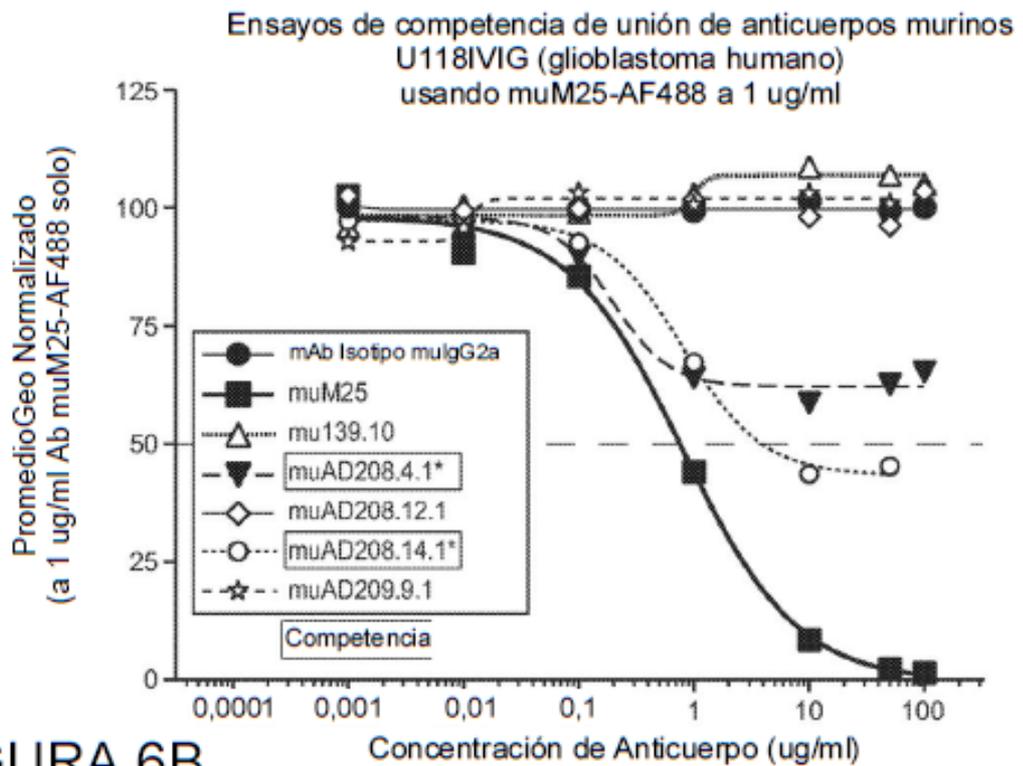


FIGURA 6B

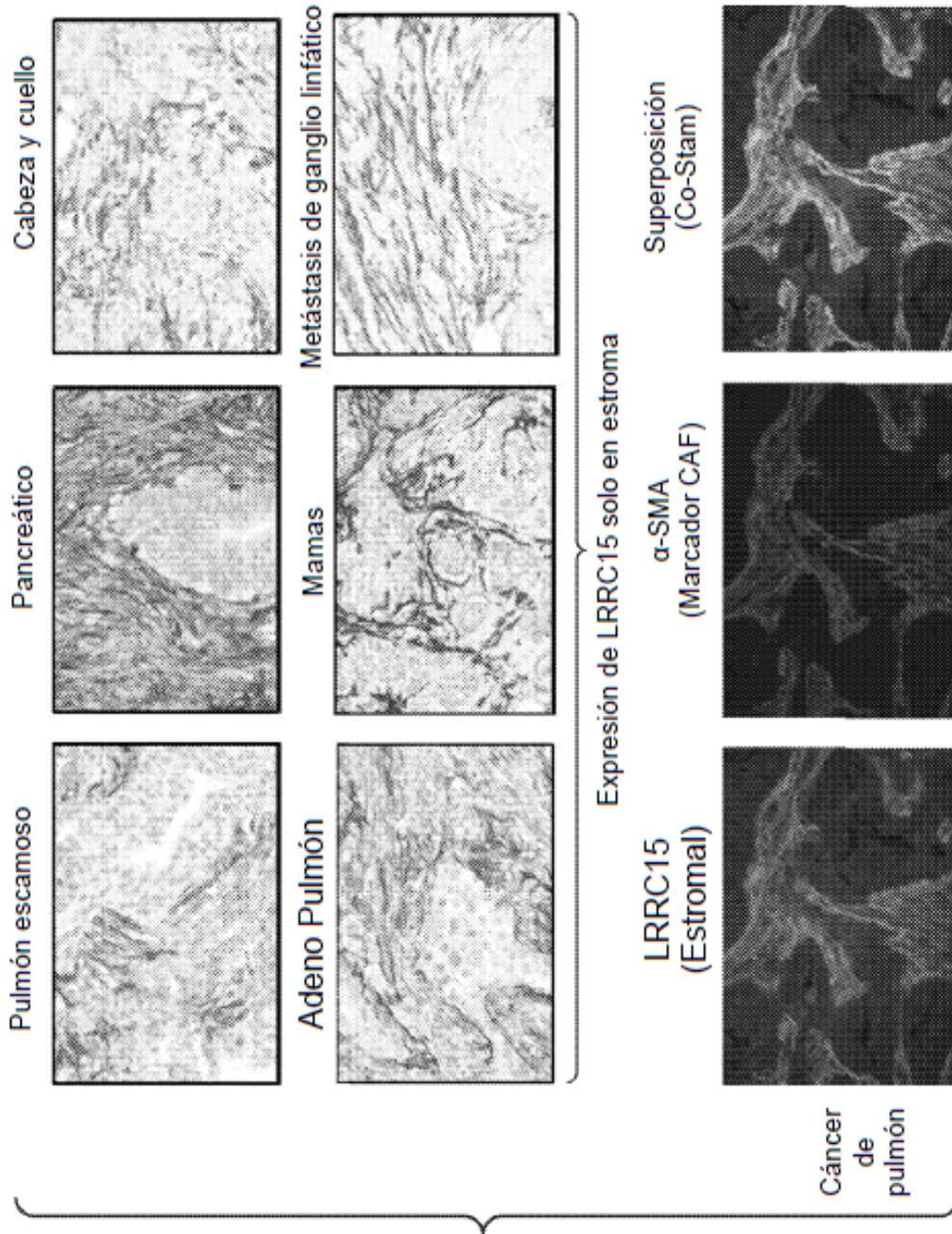


FIGURA 7

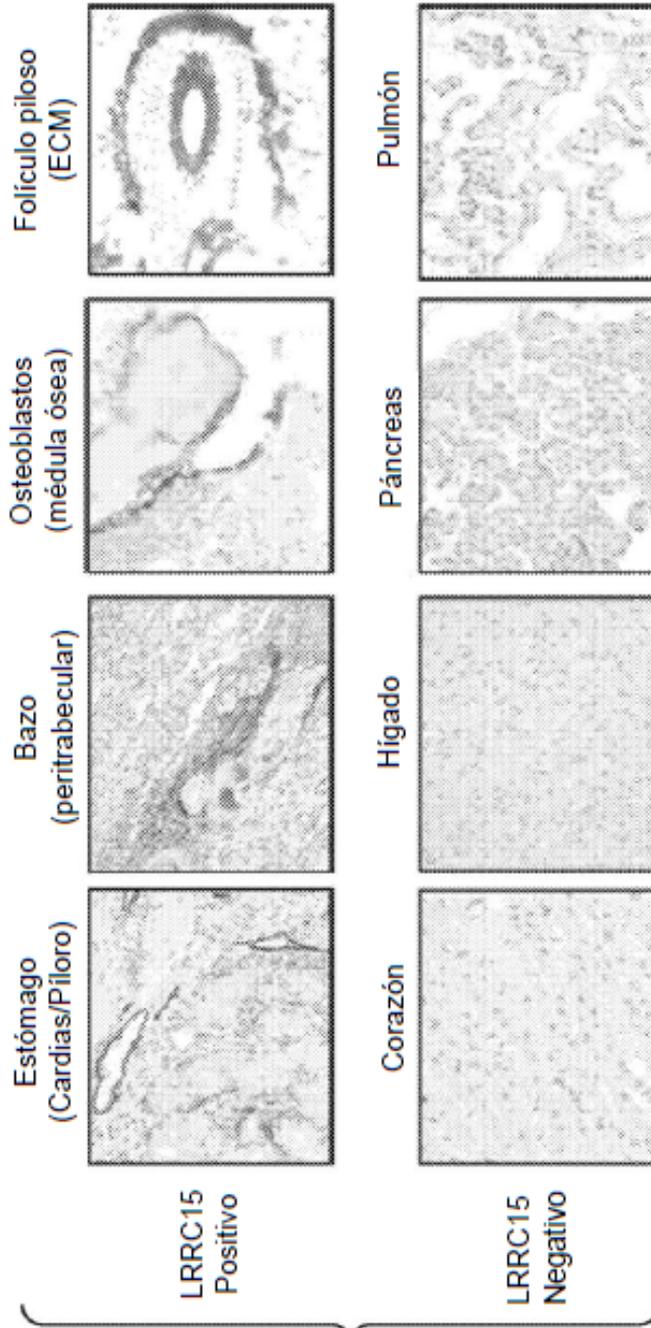


FIGURA 8

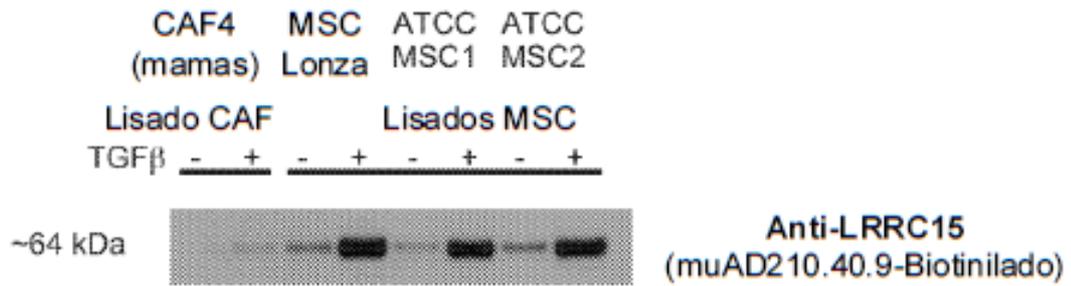
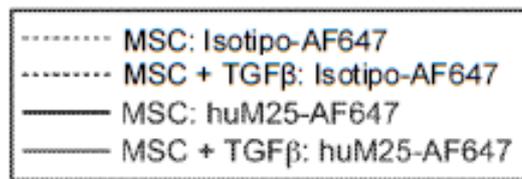
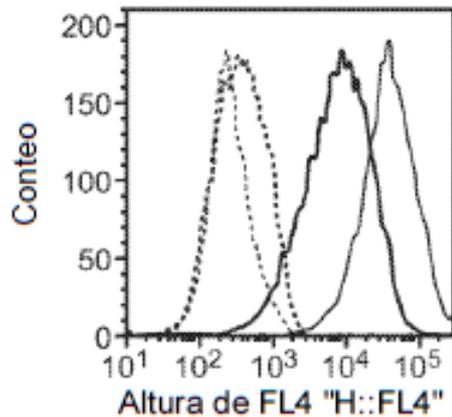


FIGURA 9A

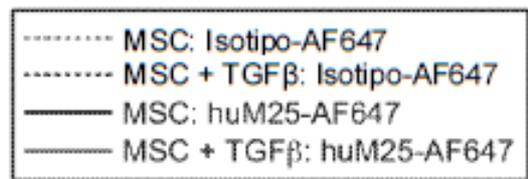


BM-MSC humano
(Lonza)

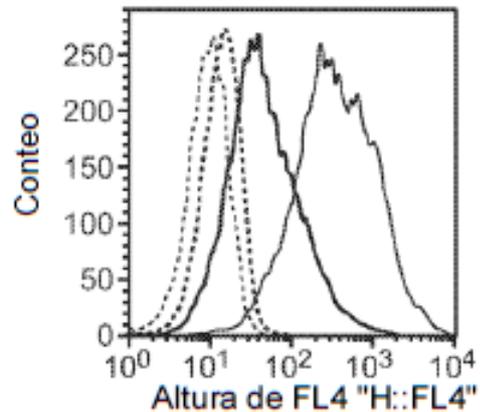


Marcadores de MSC de humano:
CD29, CD44, CD105, CD166 Pos.
CD14, CD34, CD45 Neg.

FIGURA 9B



BM-MSC Balb/c (Cyagen)



Marcadores de MSC de Balb/c, Cyagen:
CD29, CD44, CD34 y Sca-1 Pos. CD117
Neg.

FIGURA 9C

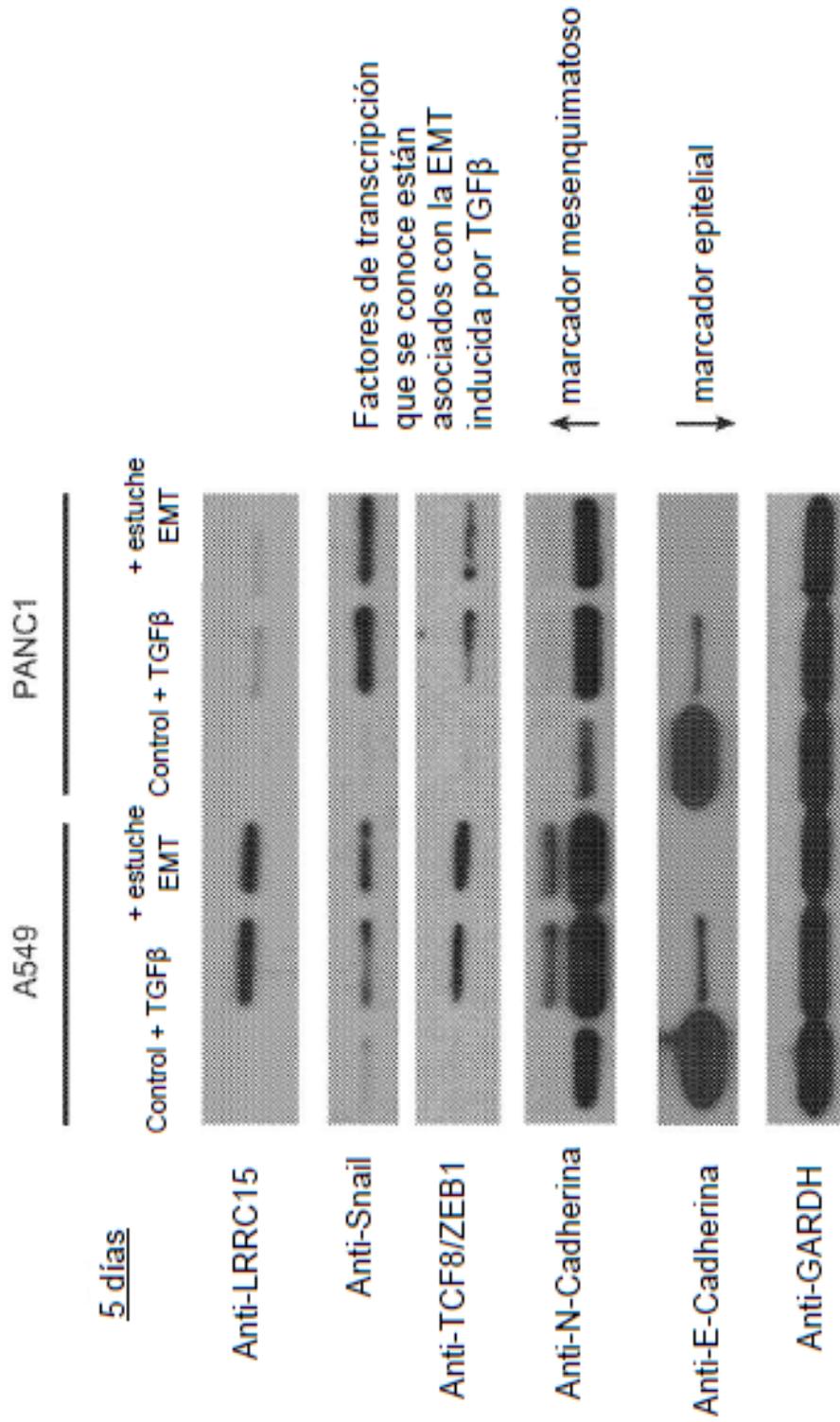
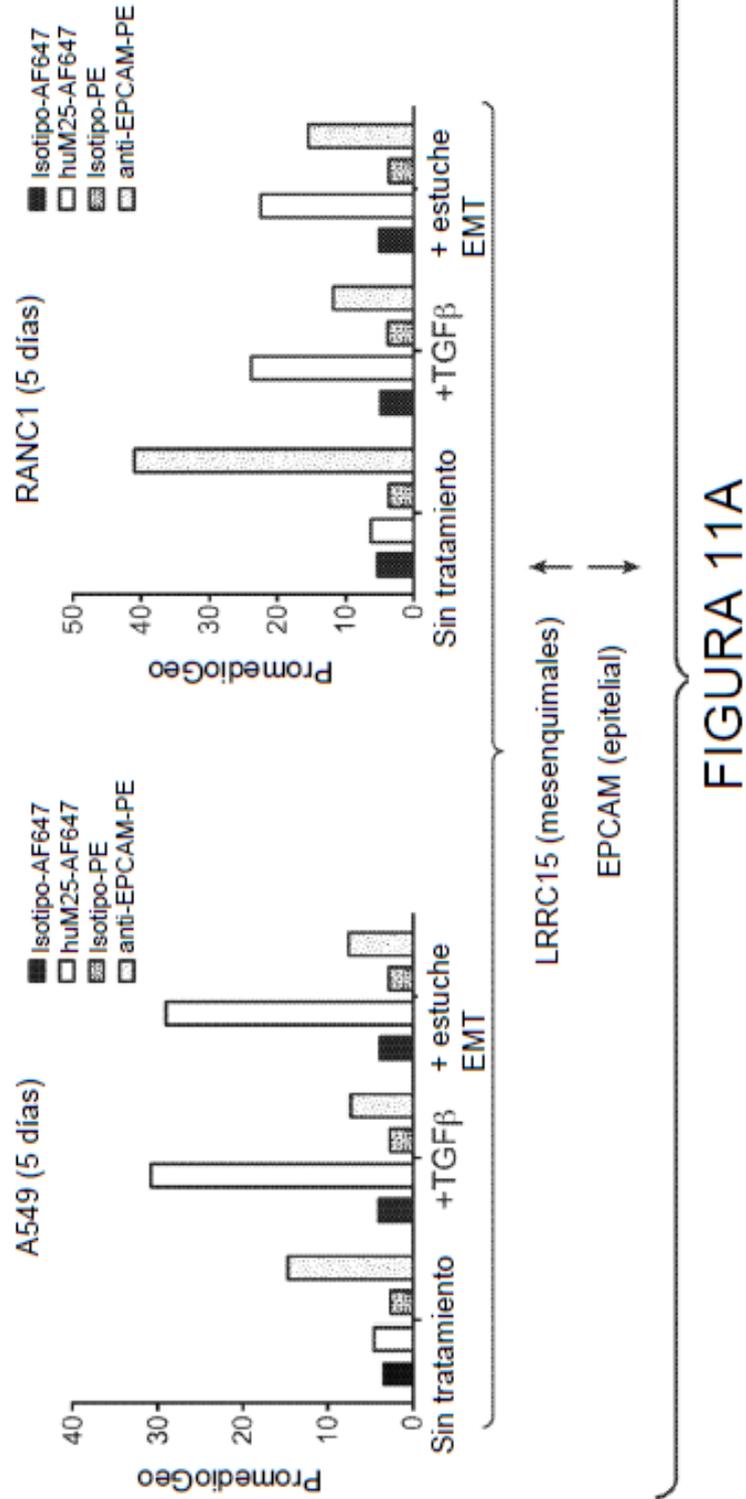


FIGURA 10



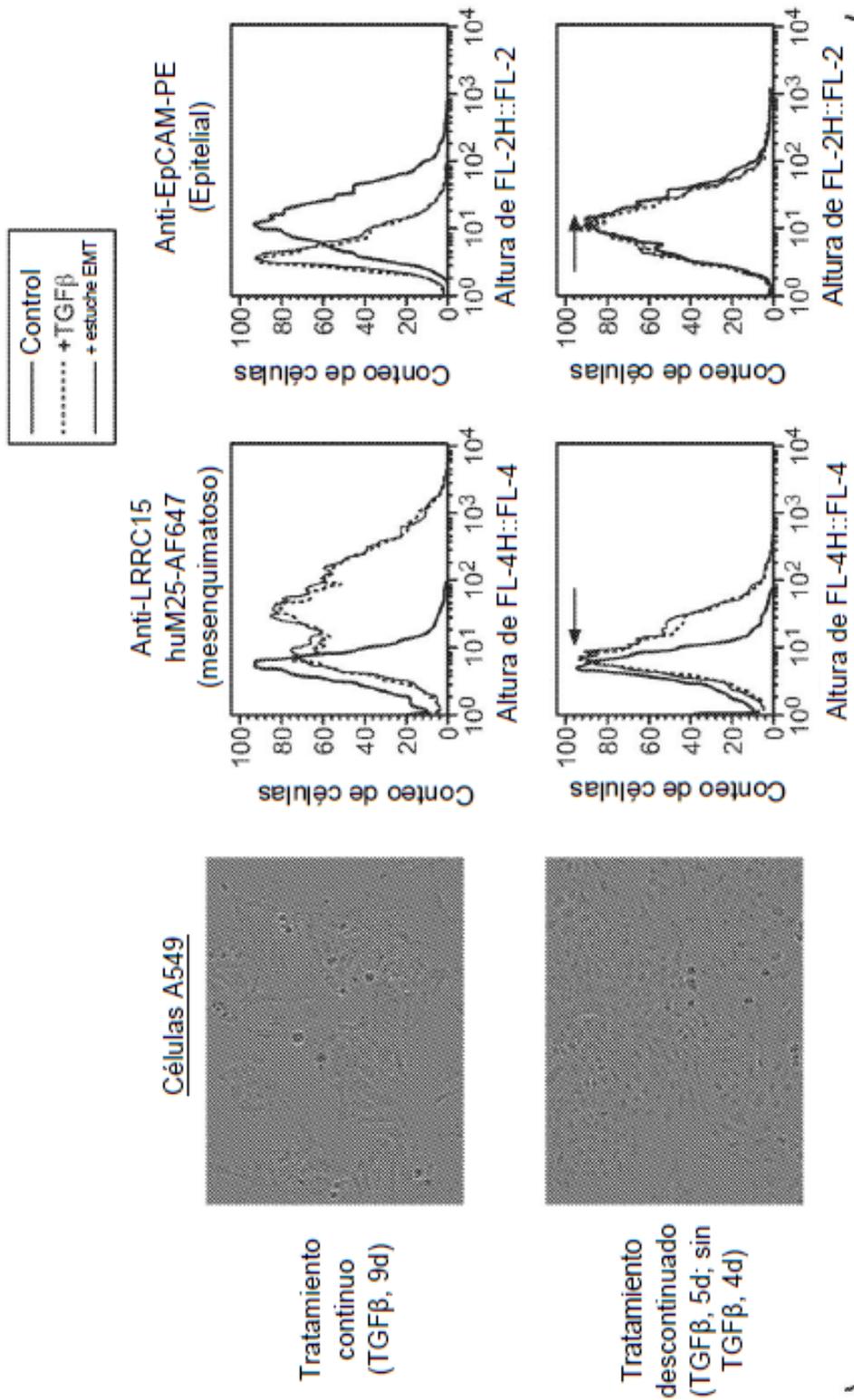
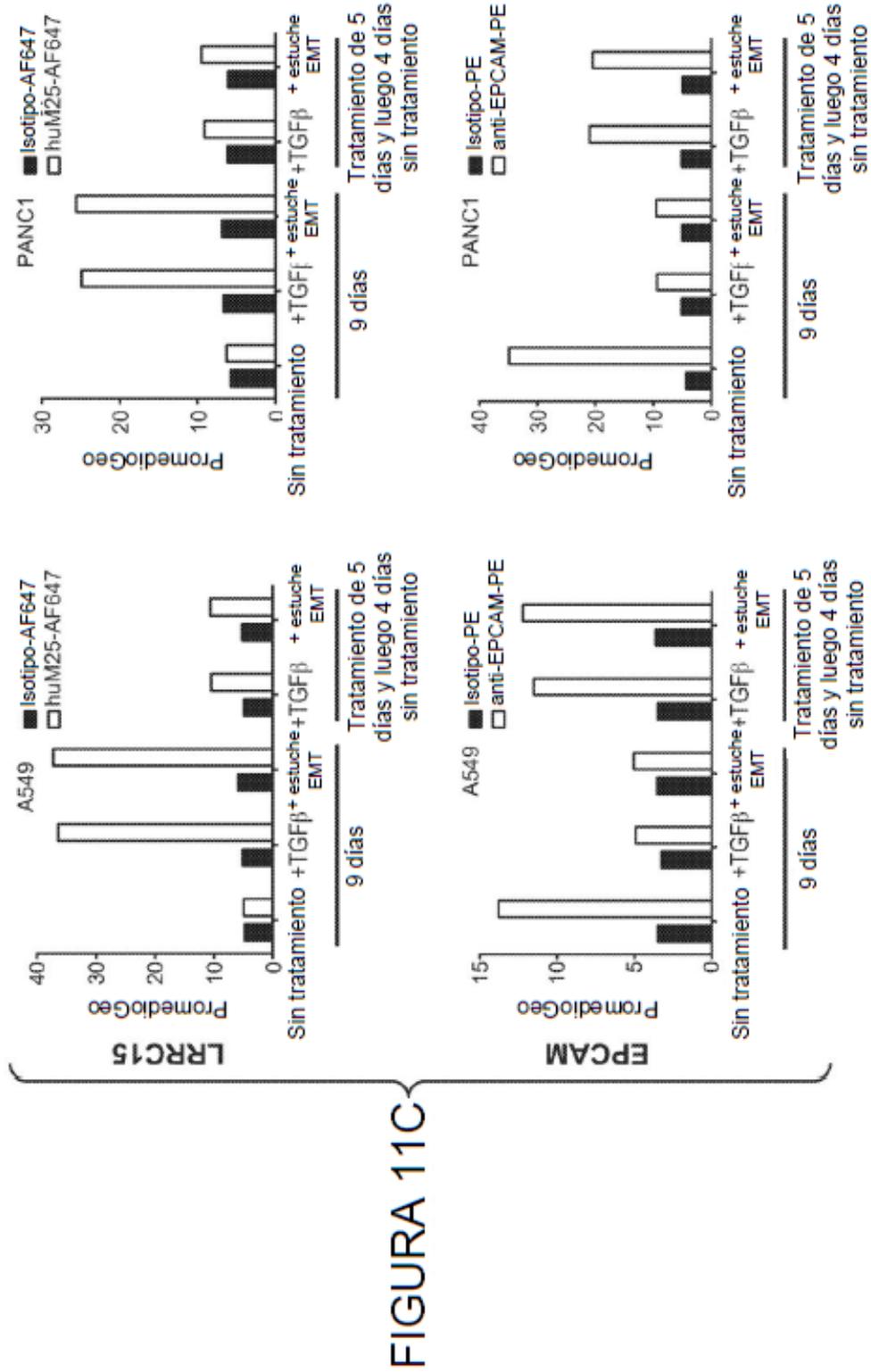


FIGURA 11B



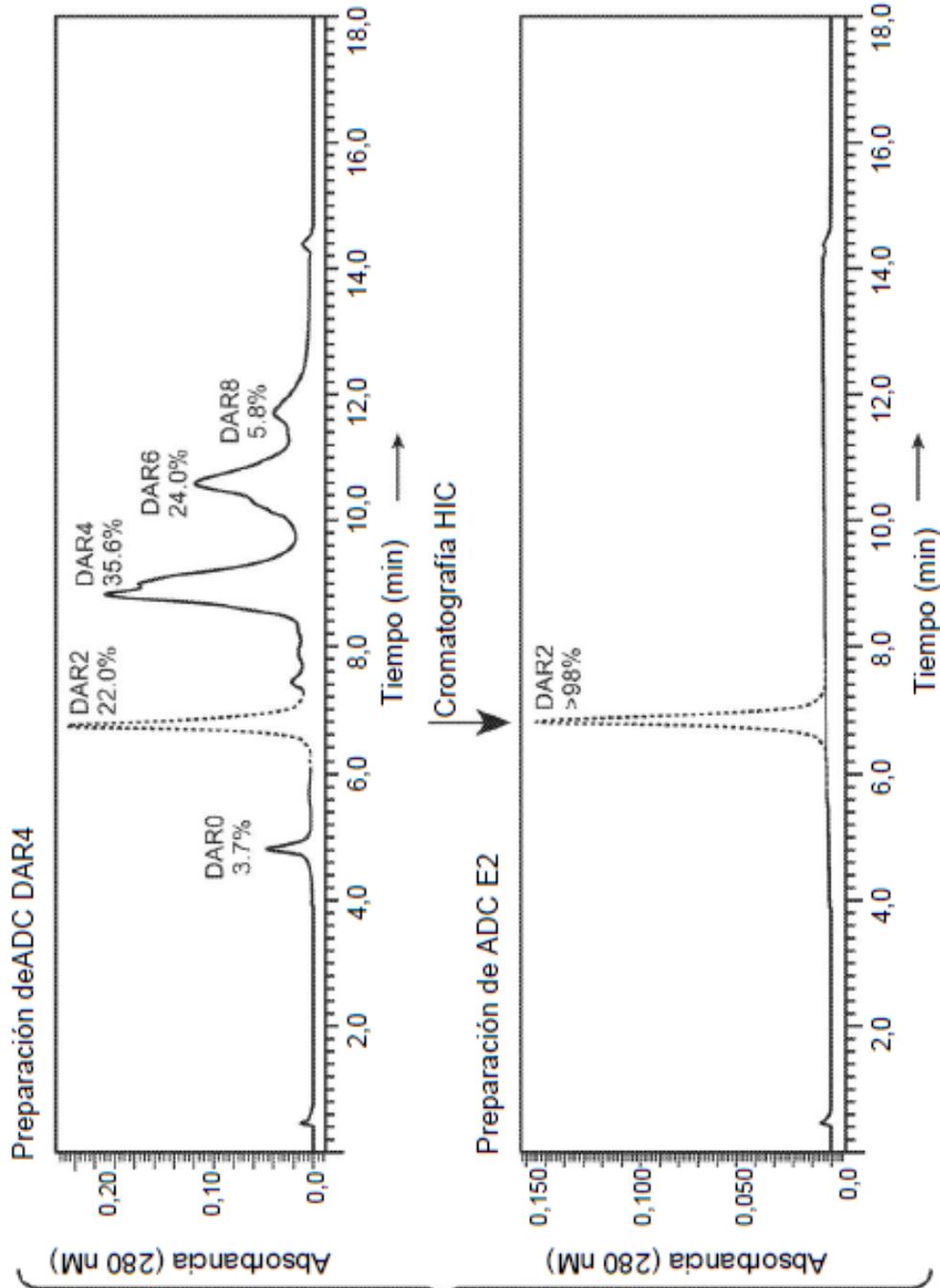


FIGURA 12

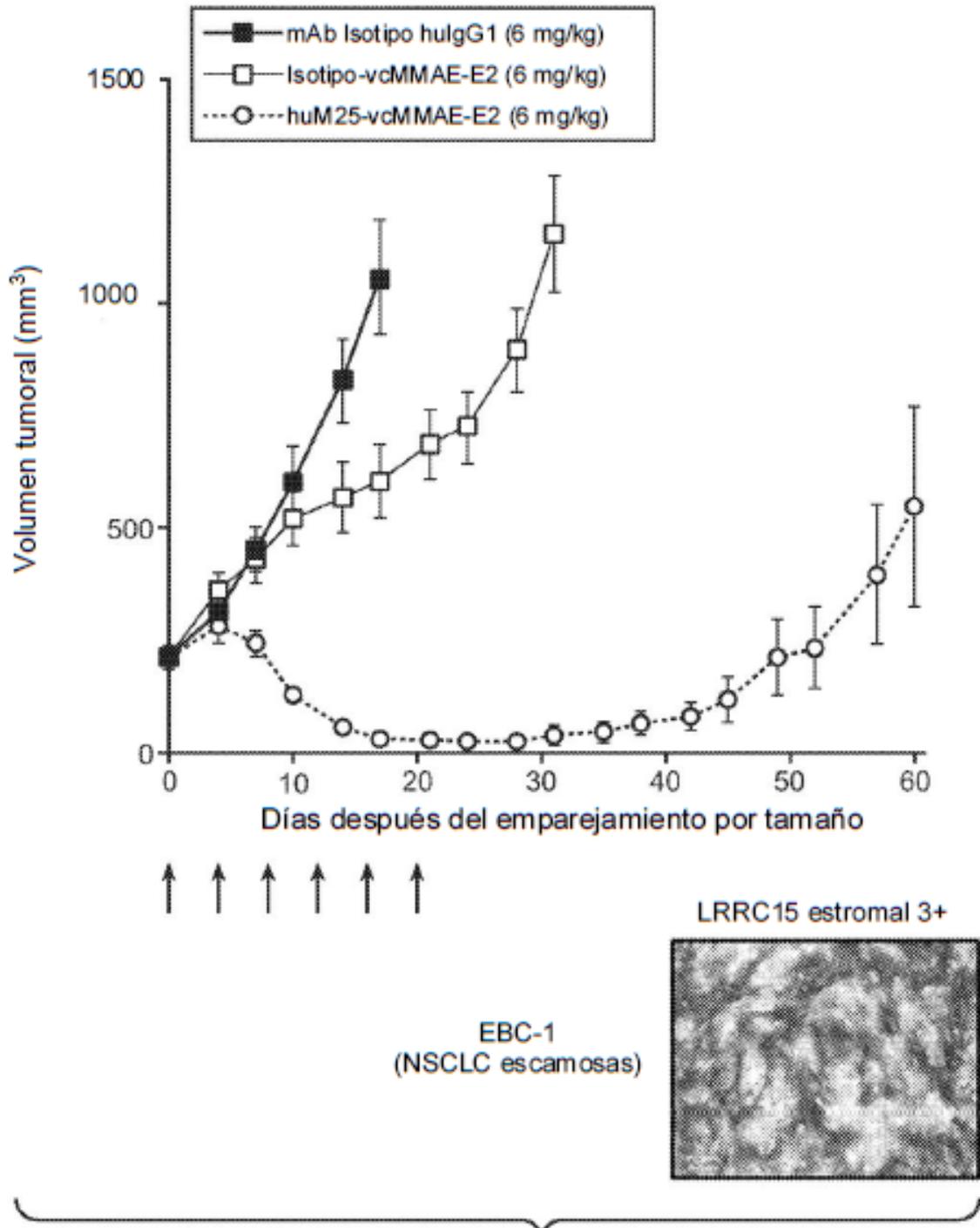


FIGURA 13A

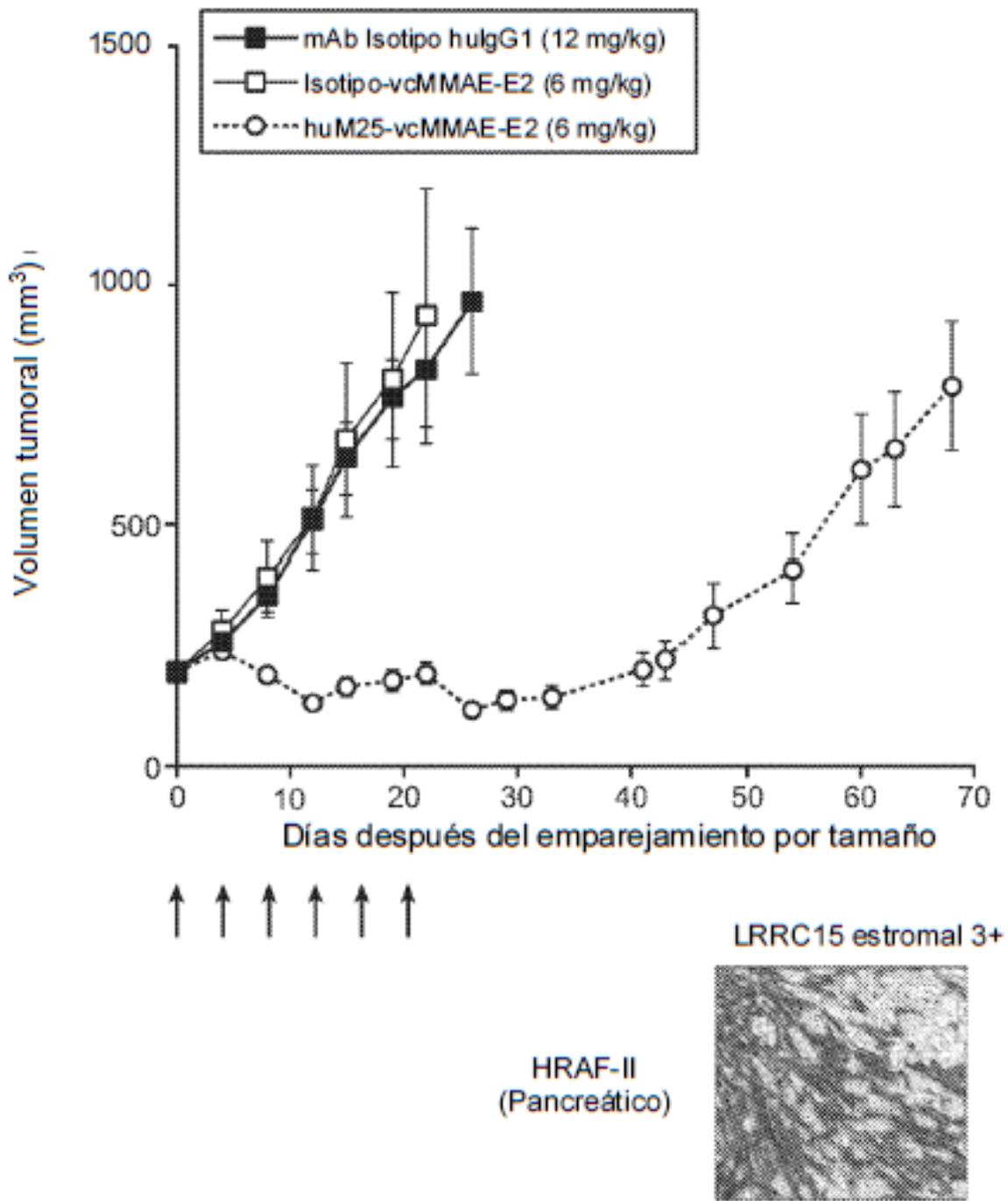


FIGURA 13B

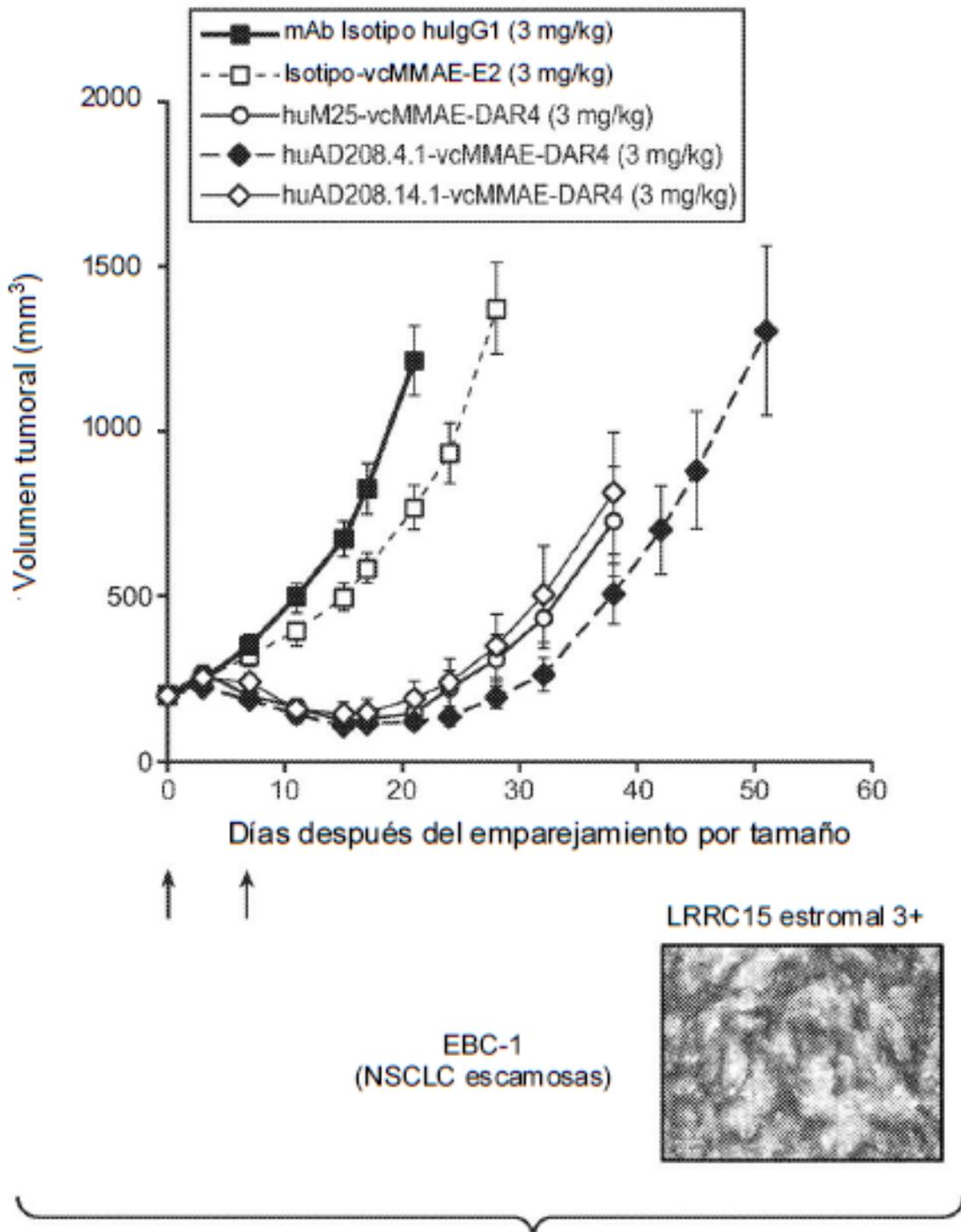


FIGURA 13C

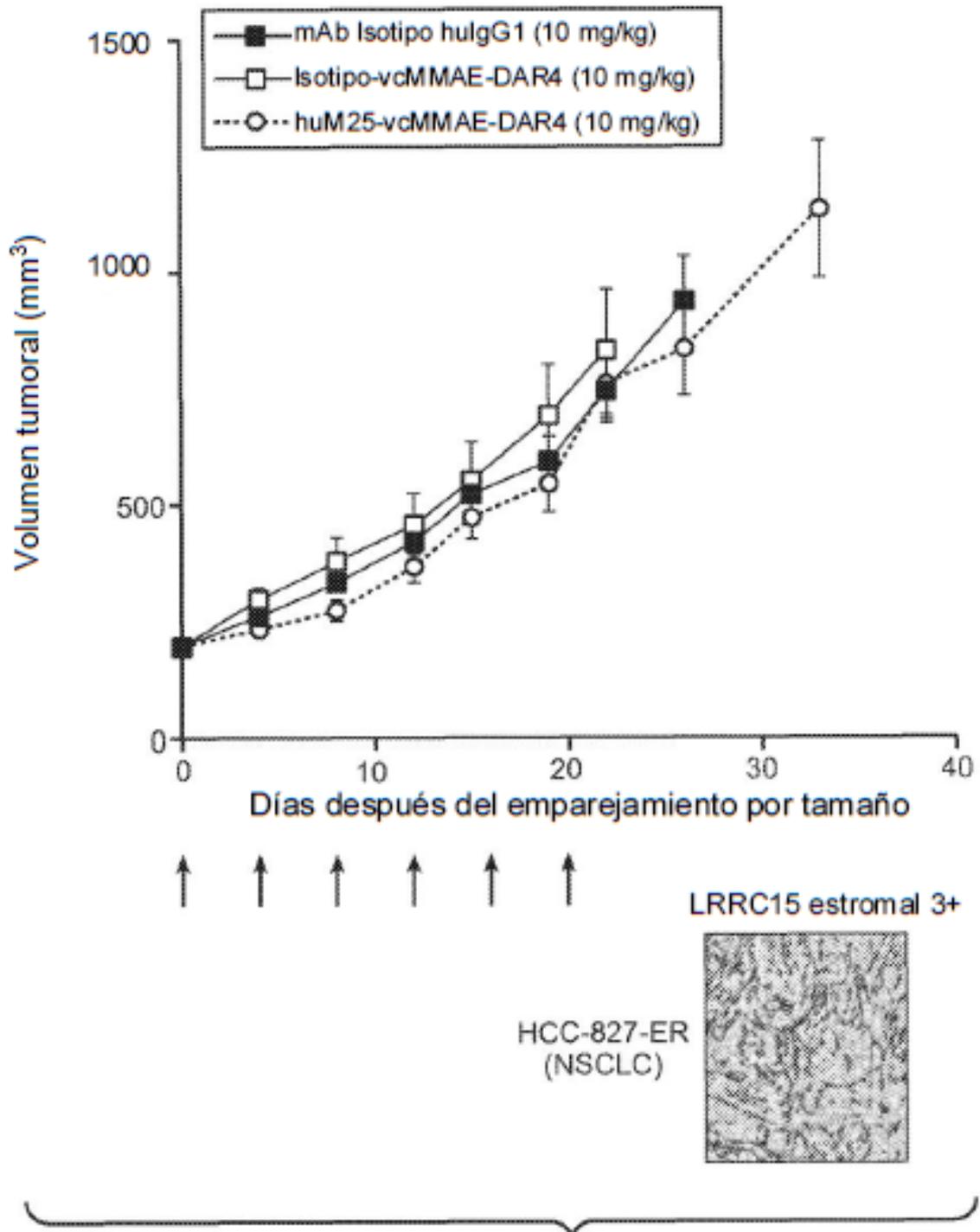


FIGURA 13D

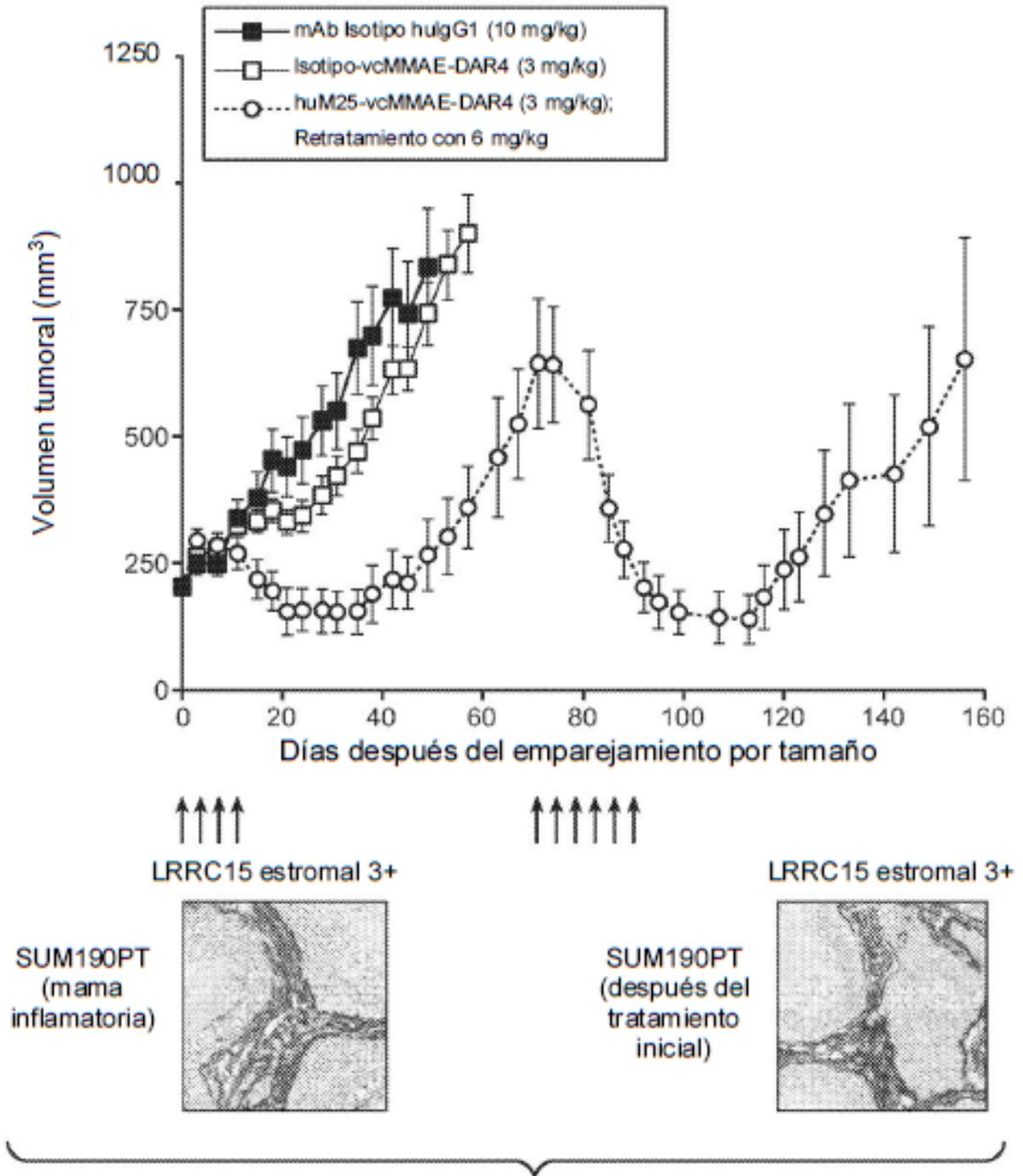


FIGURA 14

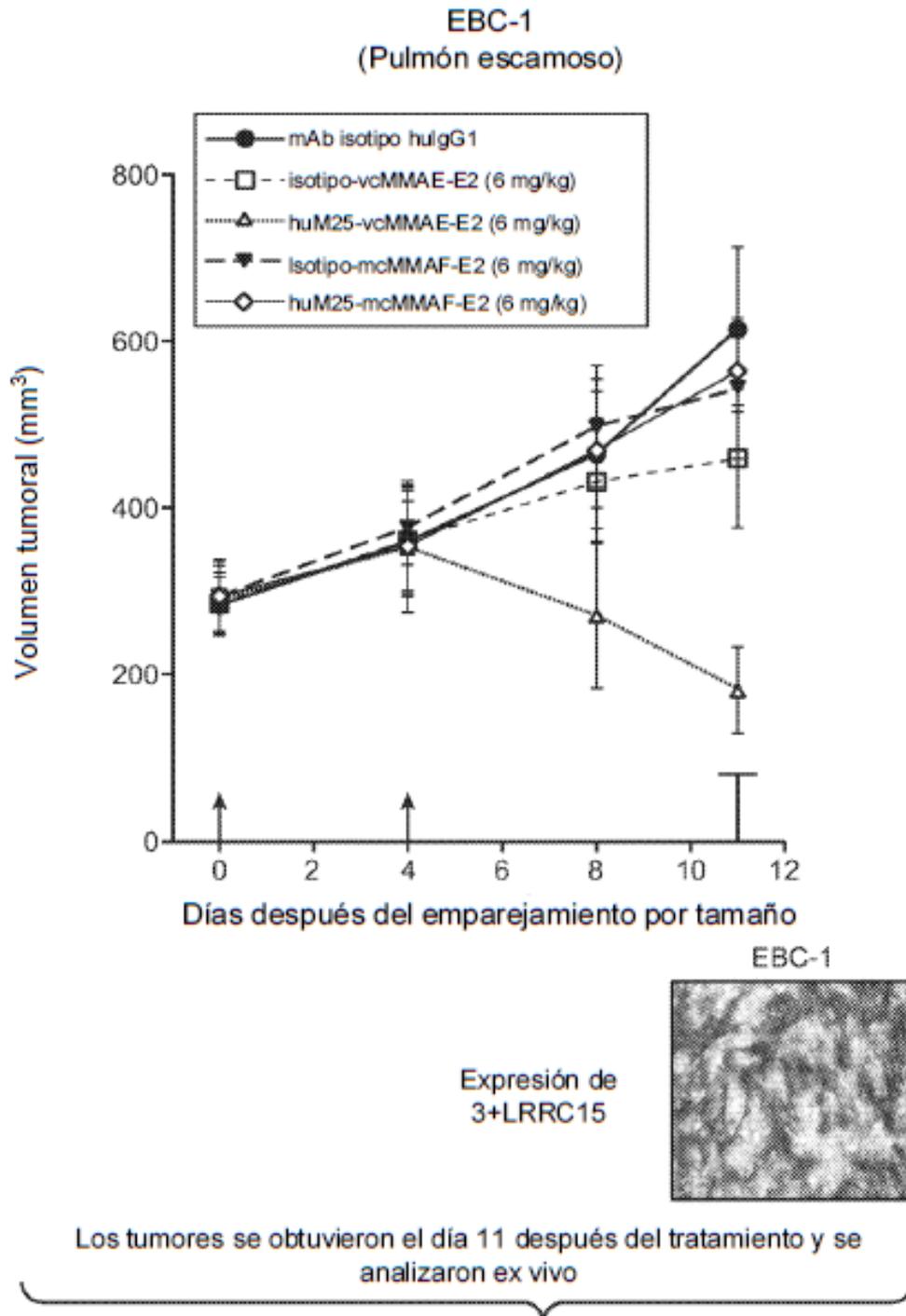


FIGURA 15A

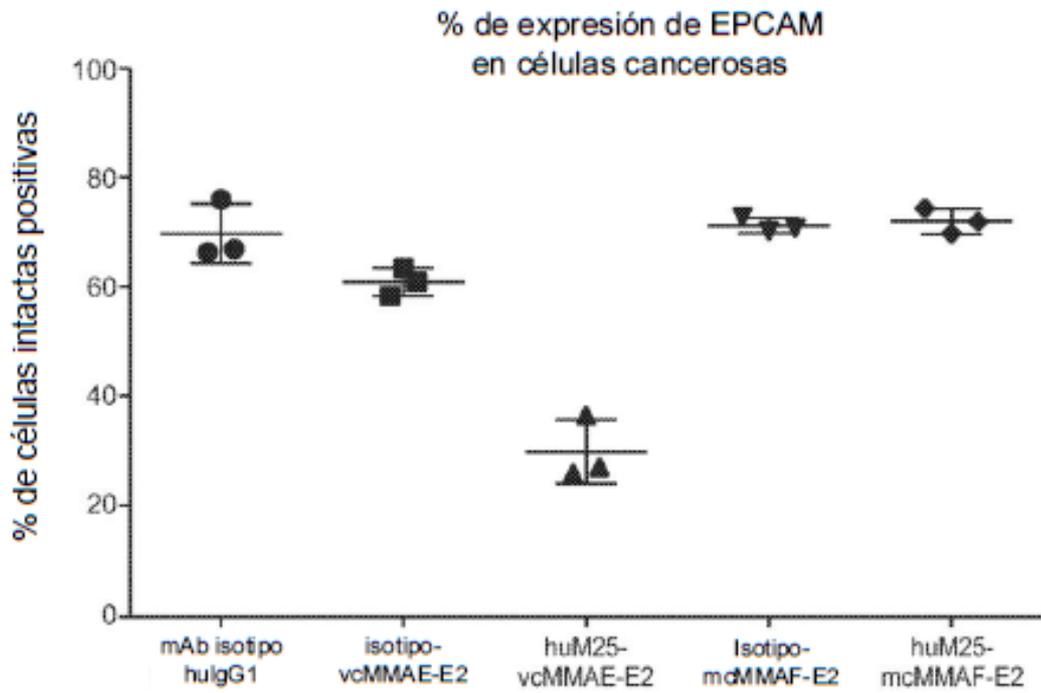


FIGURA 15B

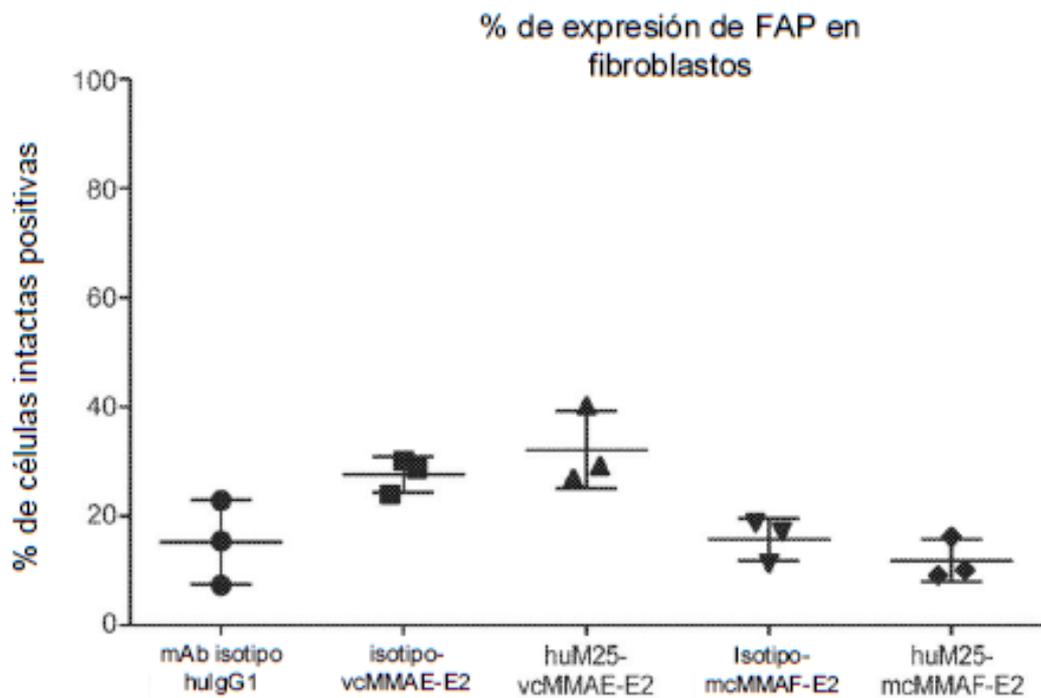


FIGURA 15C

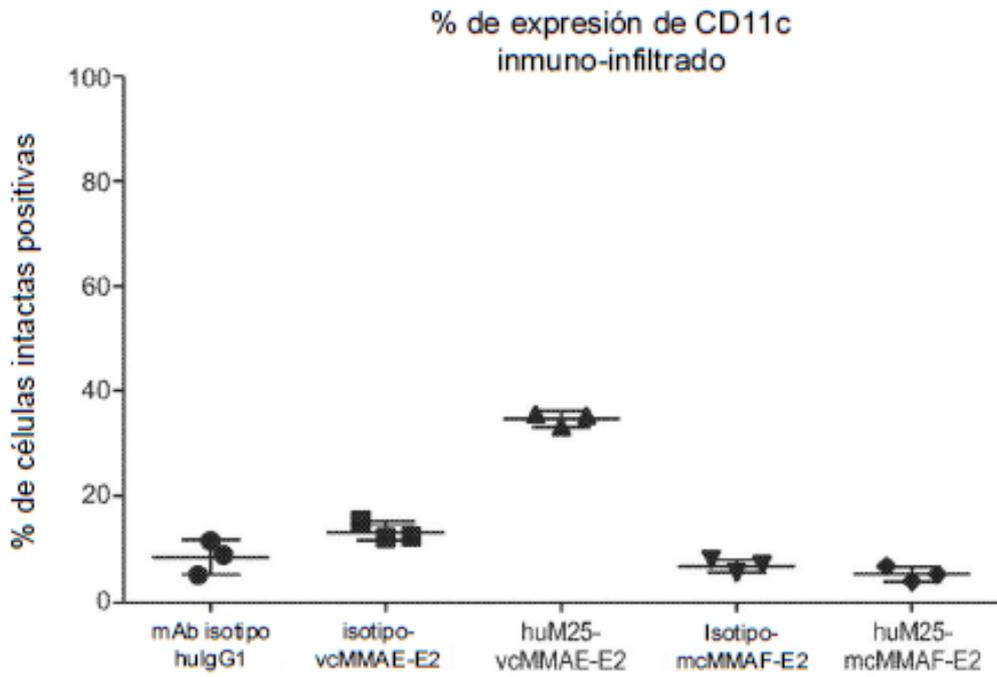


FIGURA 15D

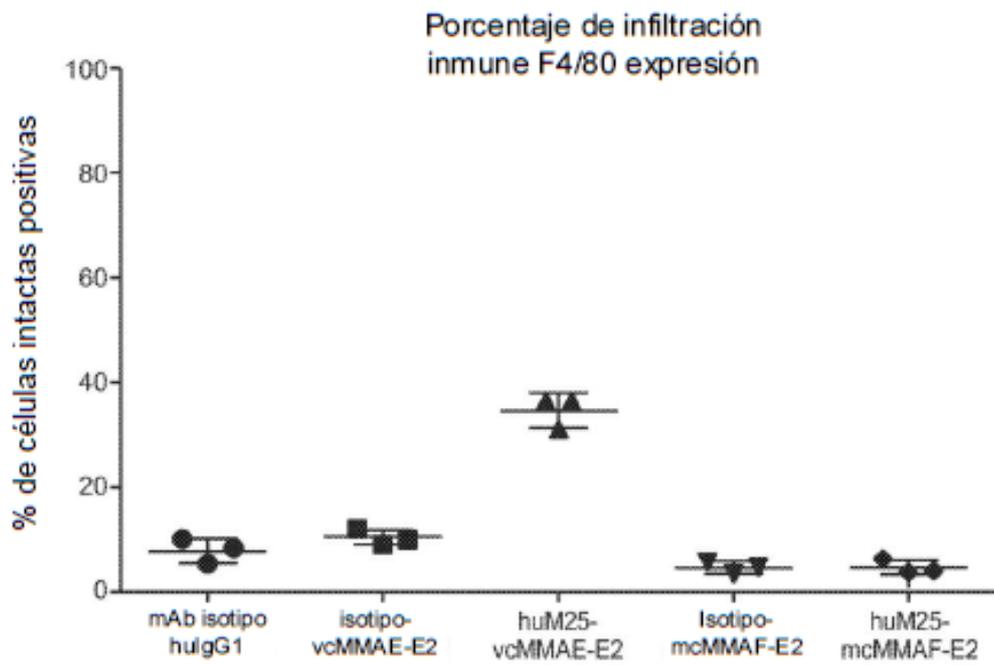


FIGURA 15E

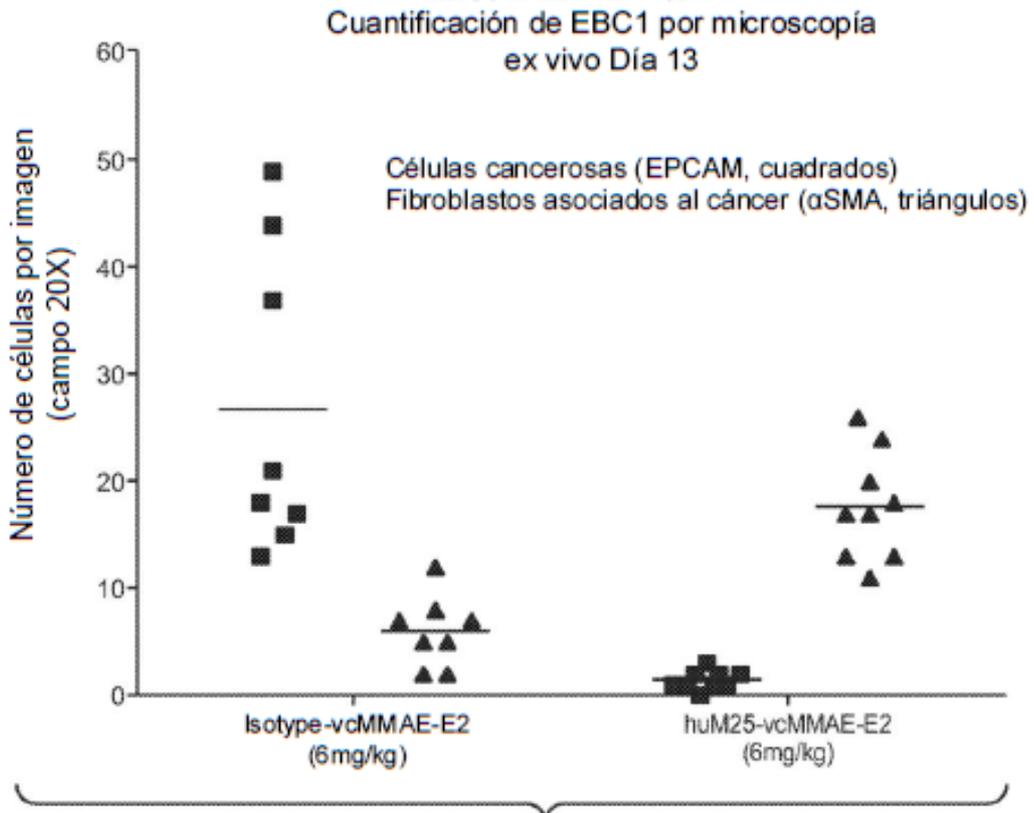
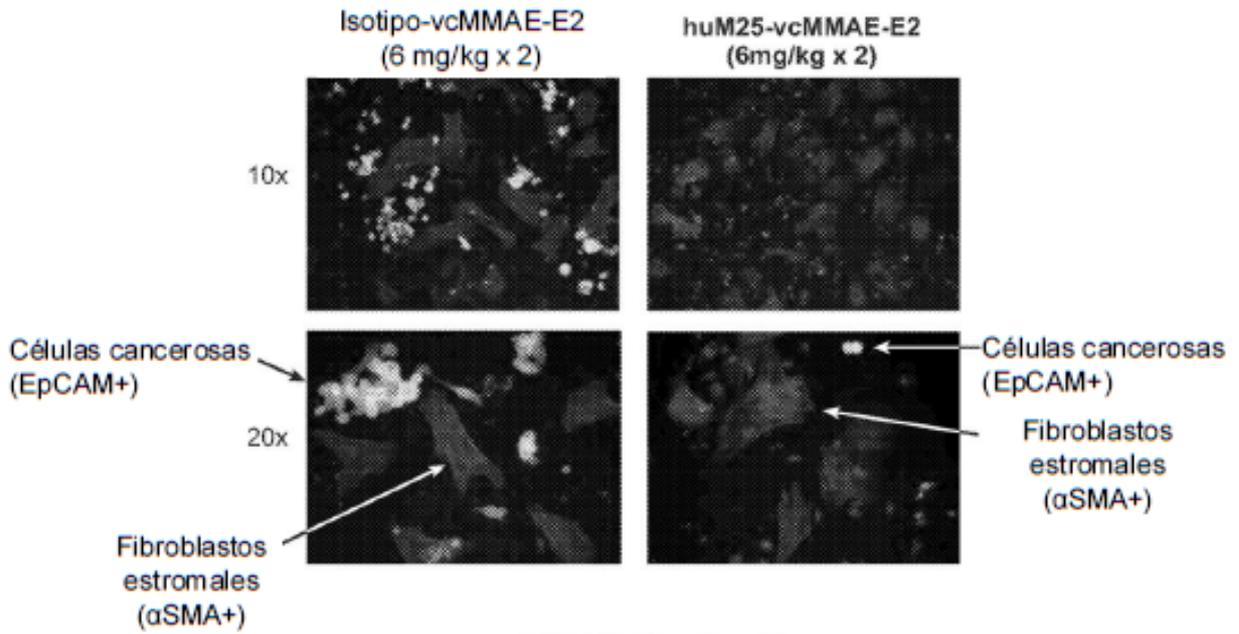
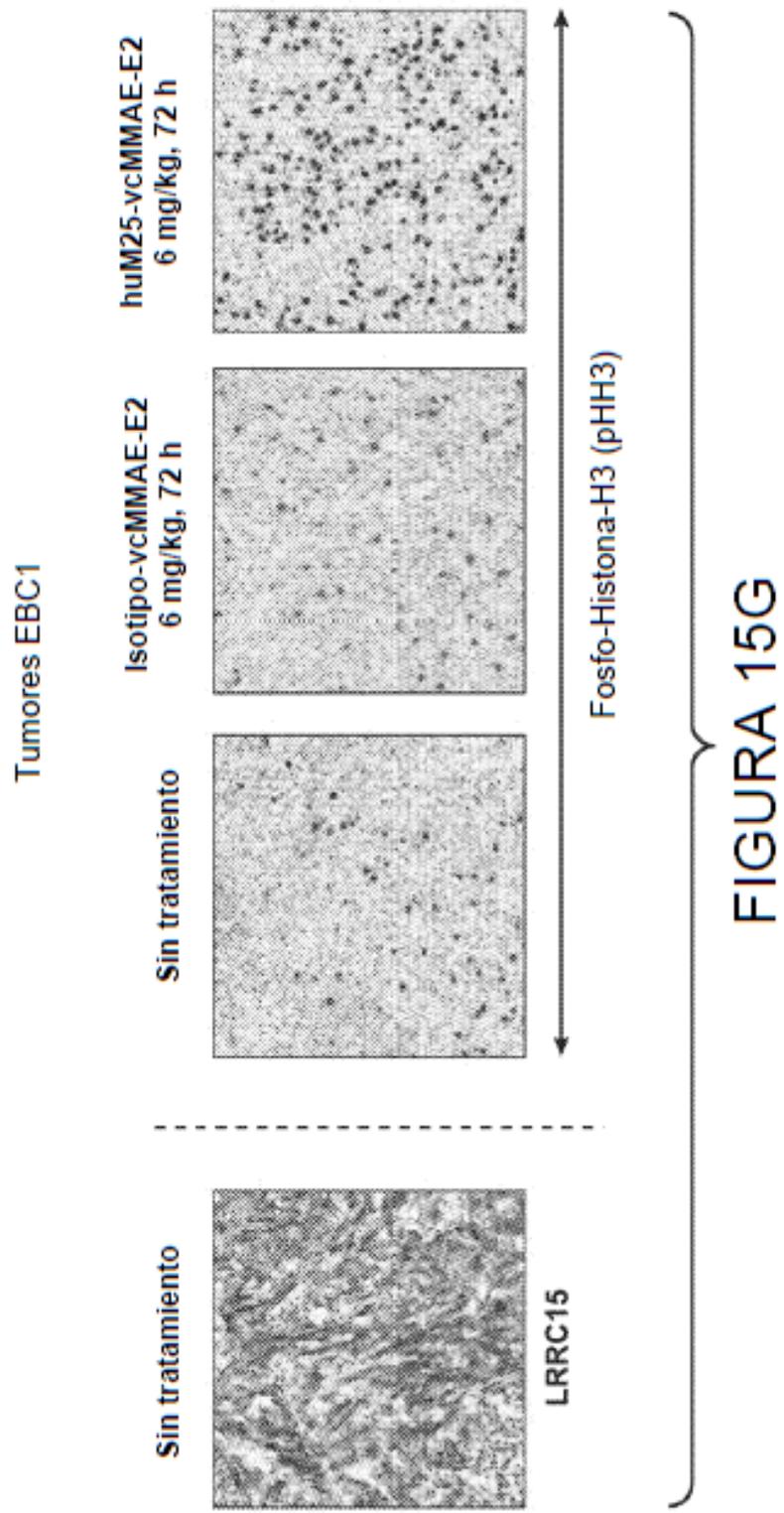


FIGURA 15F



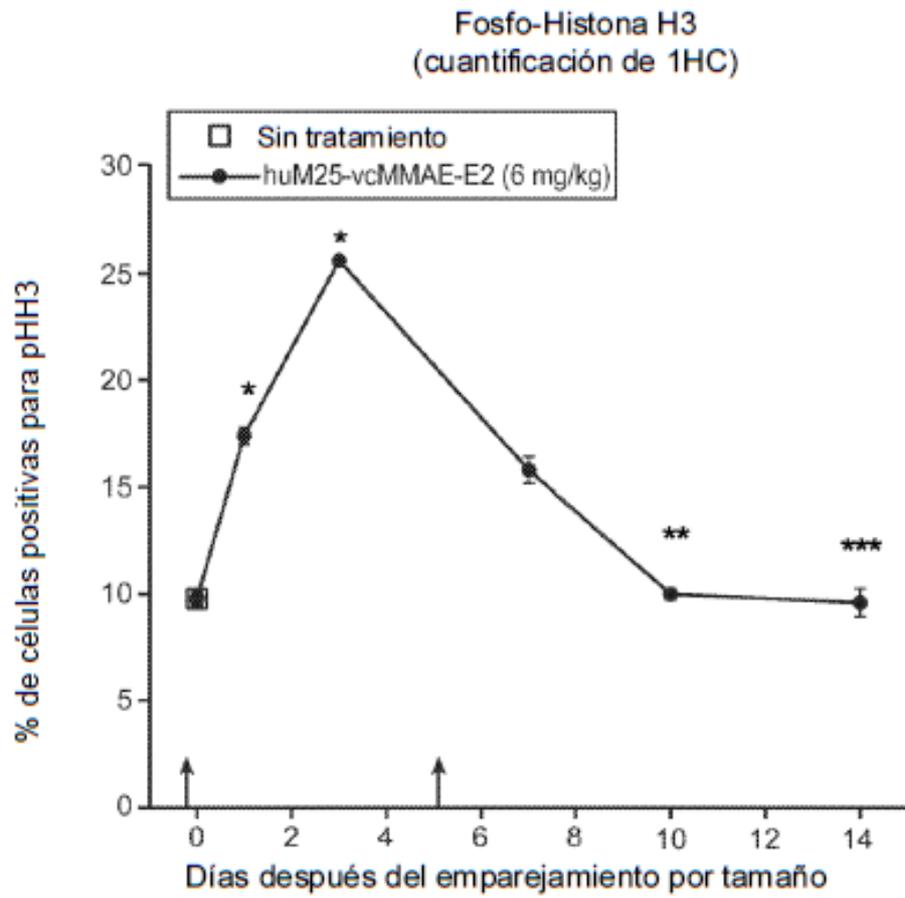
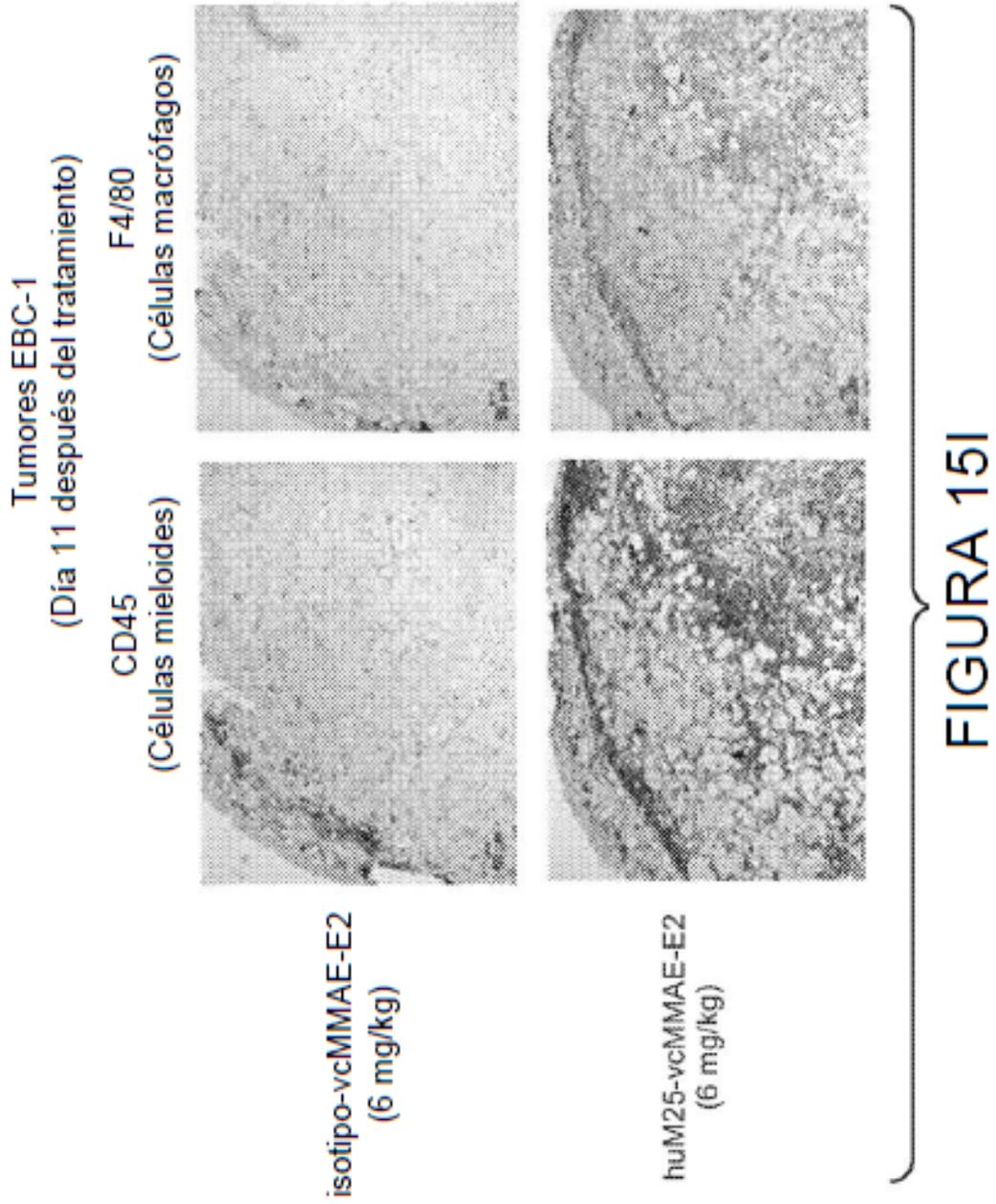


FIGURA 15H



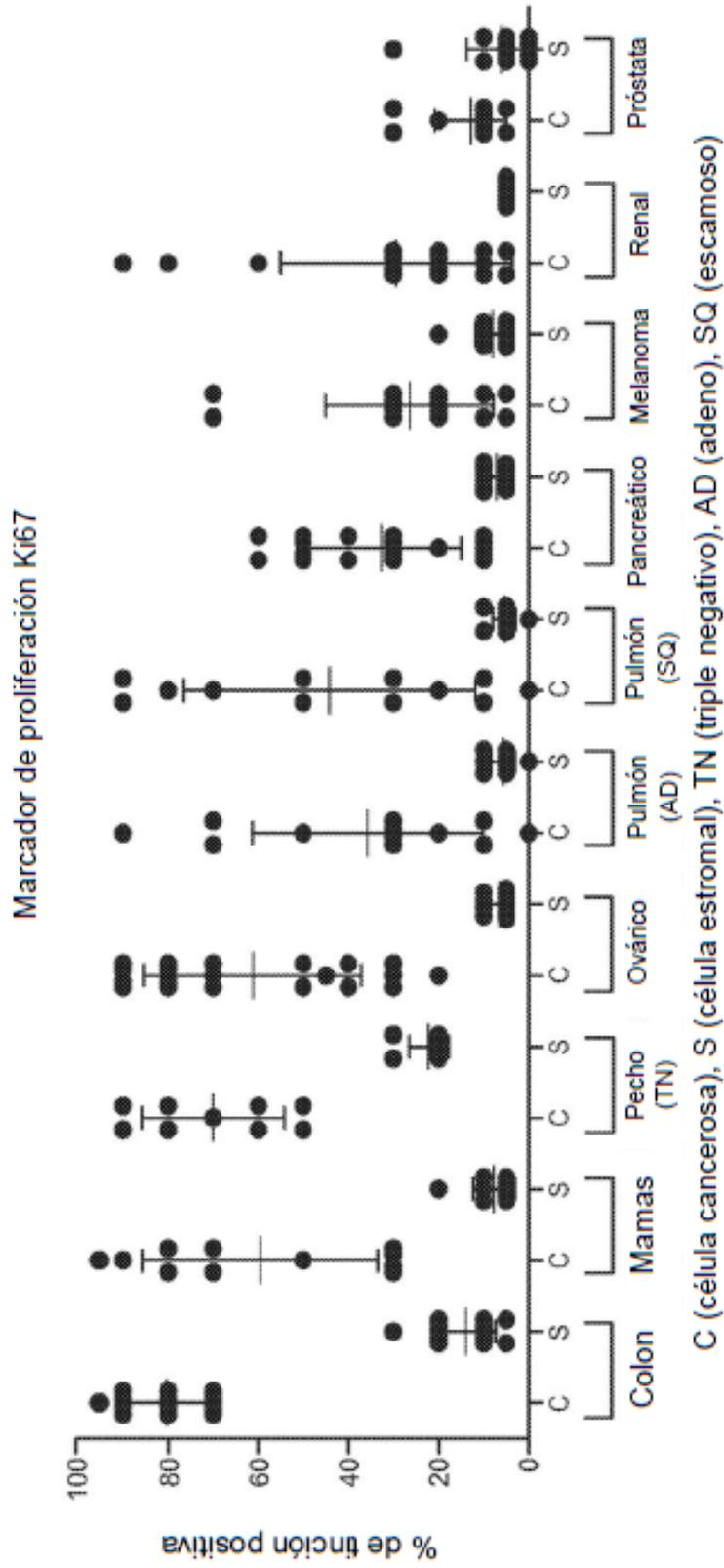


FIGURA 16

Eliminación de células
HCT116-huLRRC15 (in vitro)

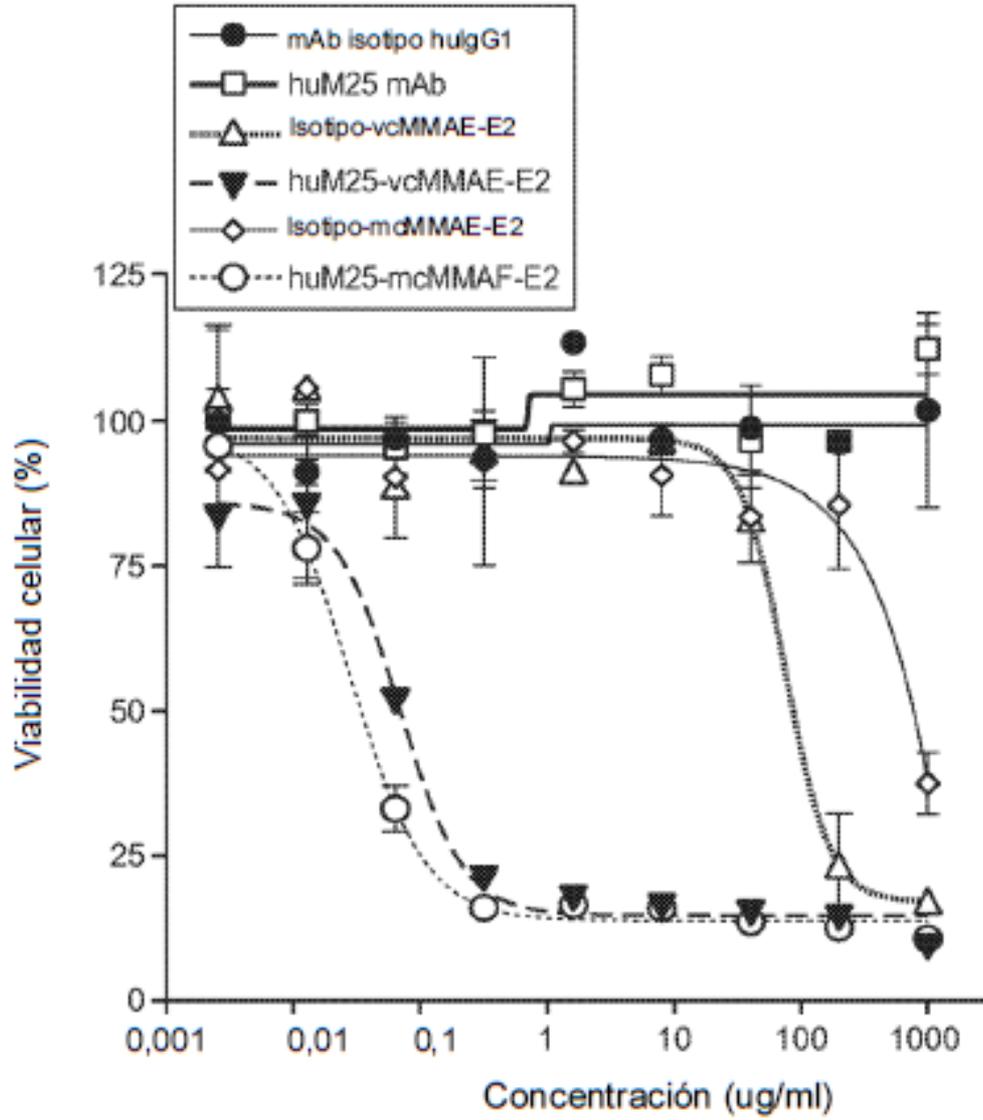


FIGURA 17A

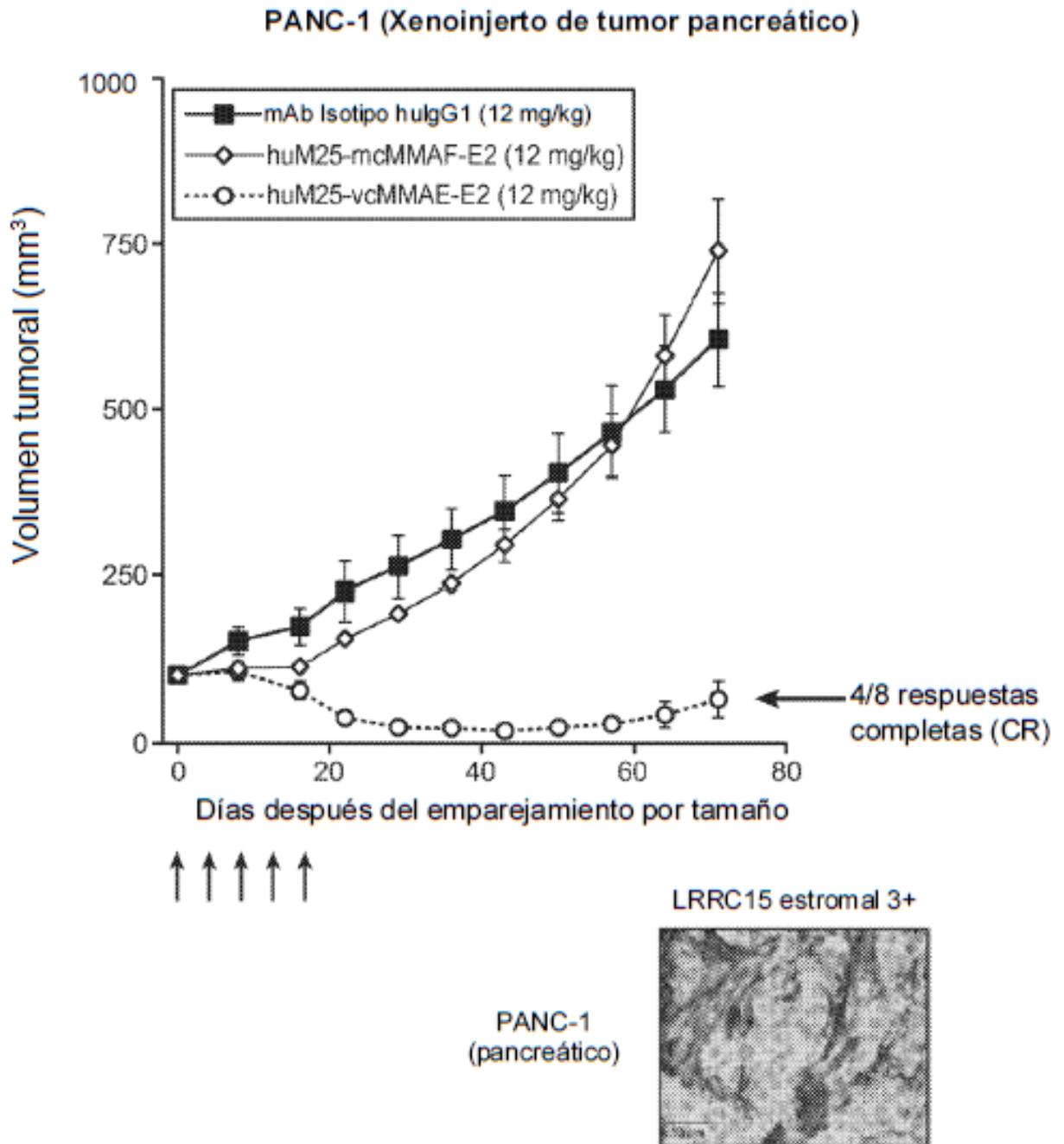


FIGURA 17B

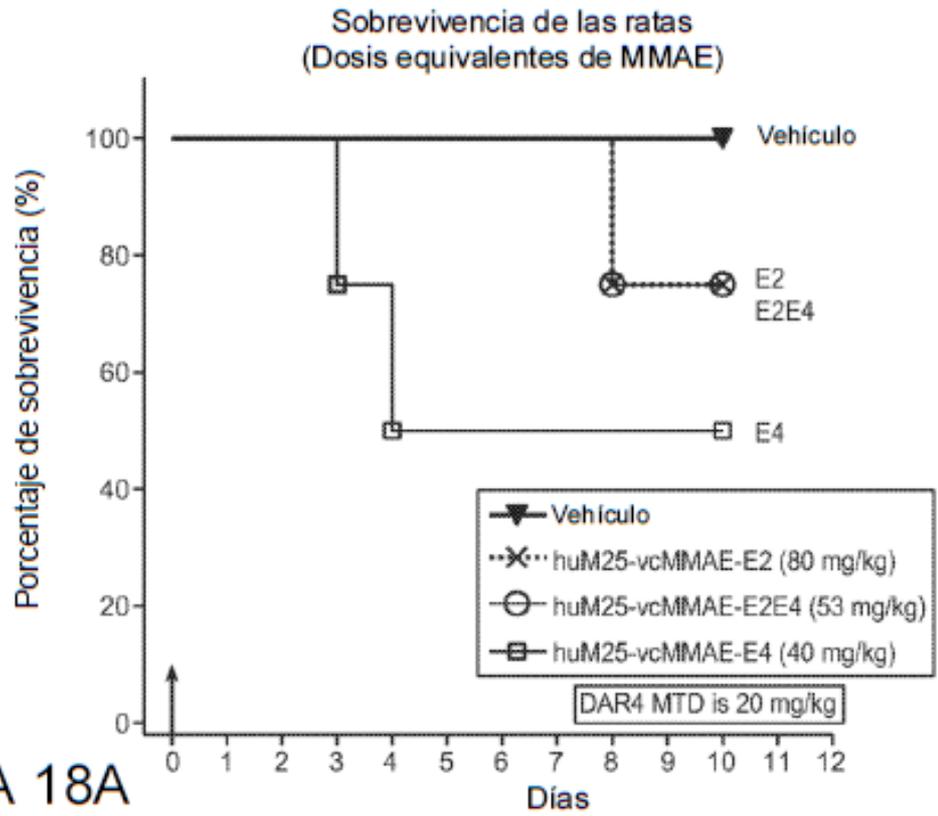


FIGURA 18A

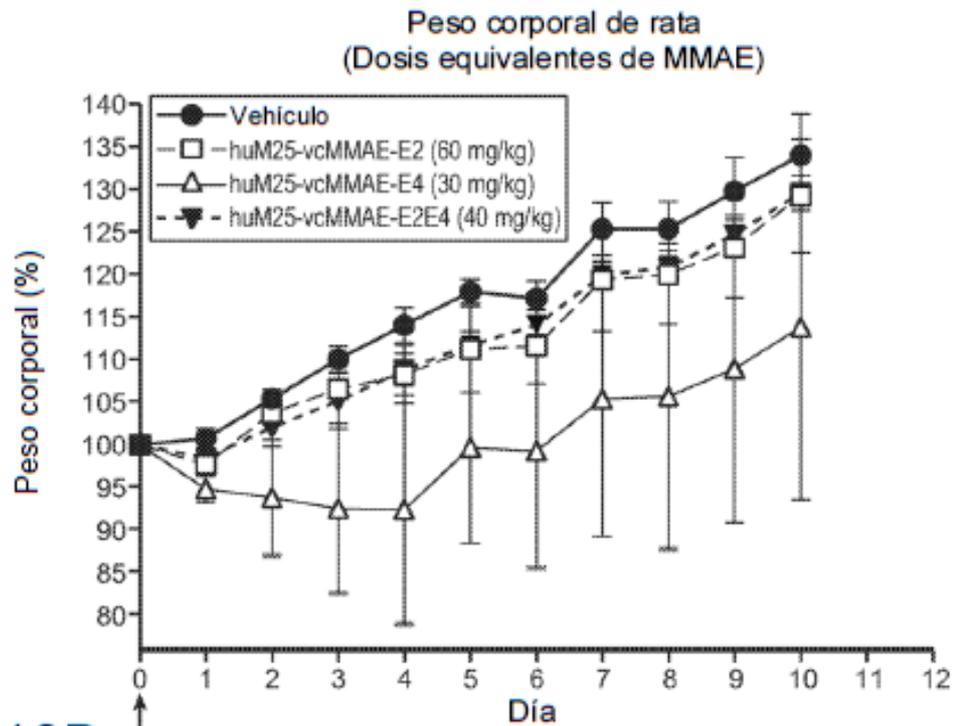


FIGURA 18B

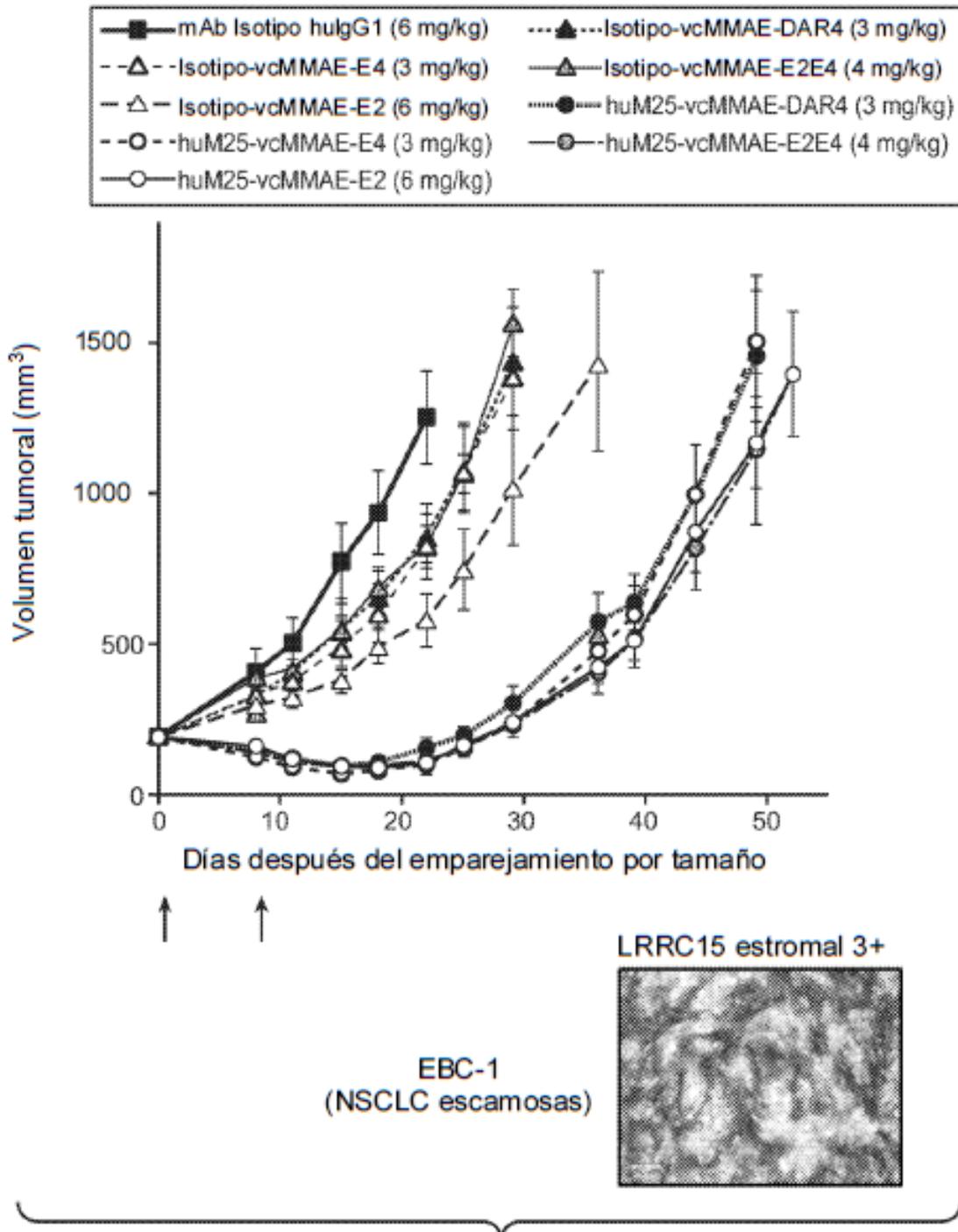


FIGURA 19

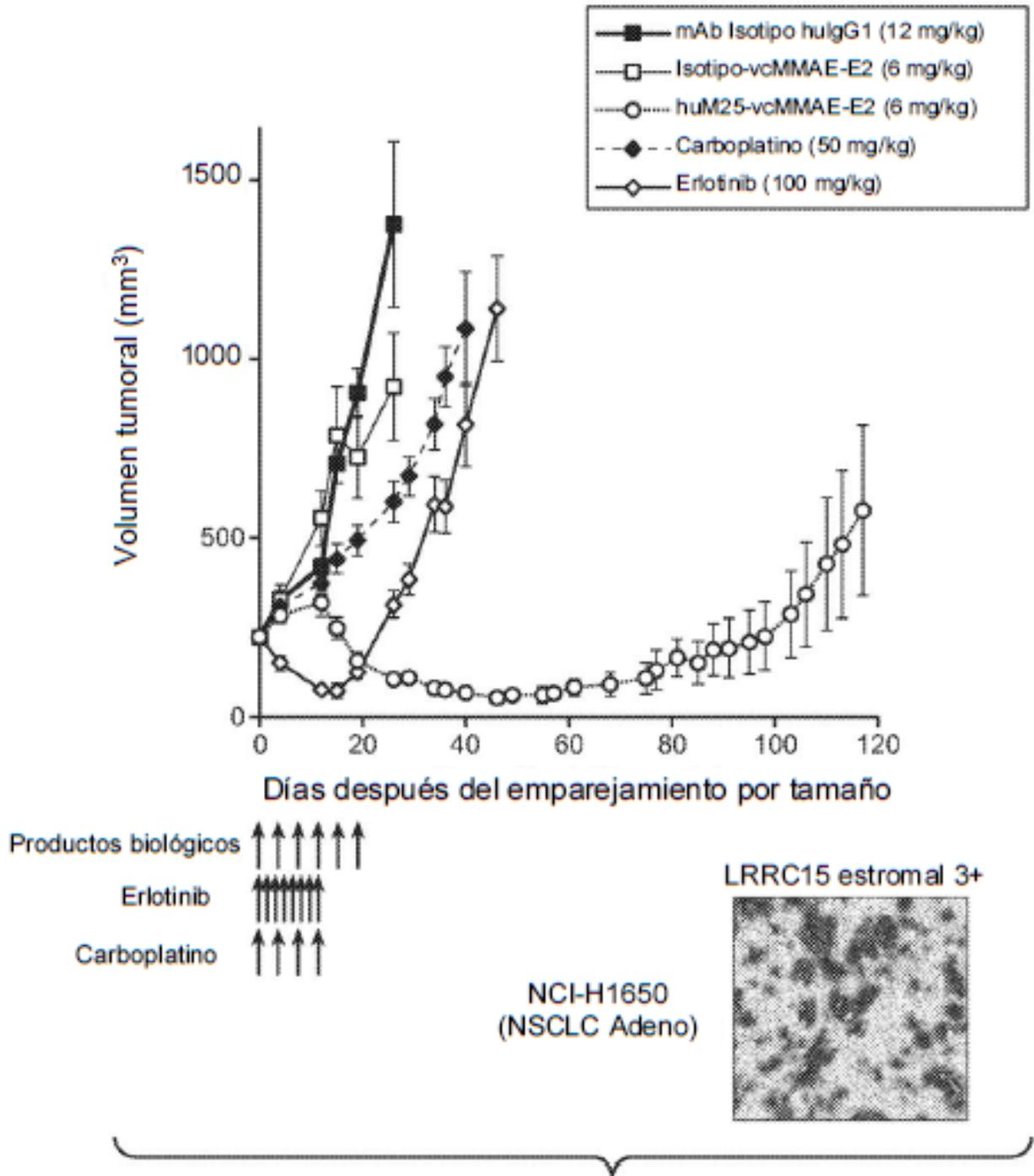


FIGURA 20A

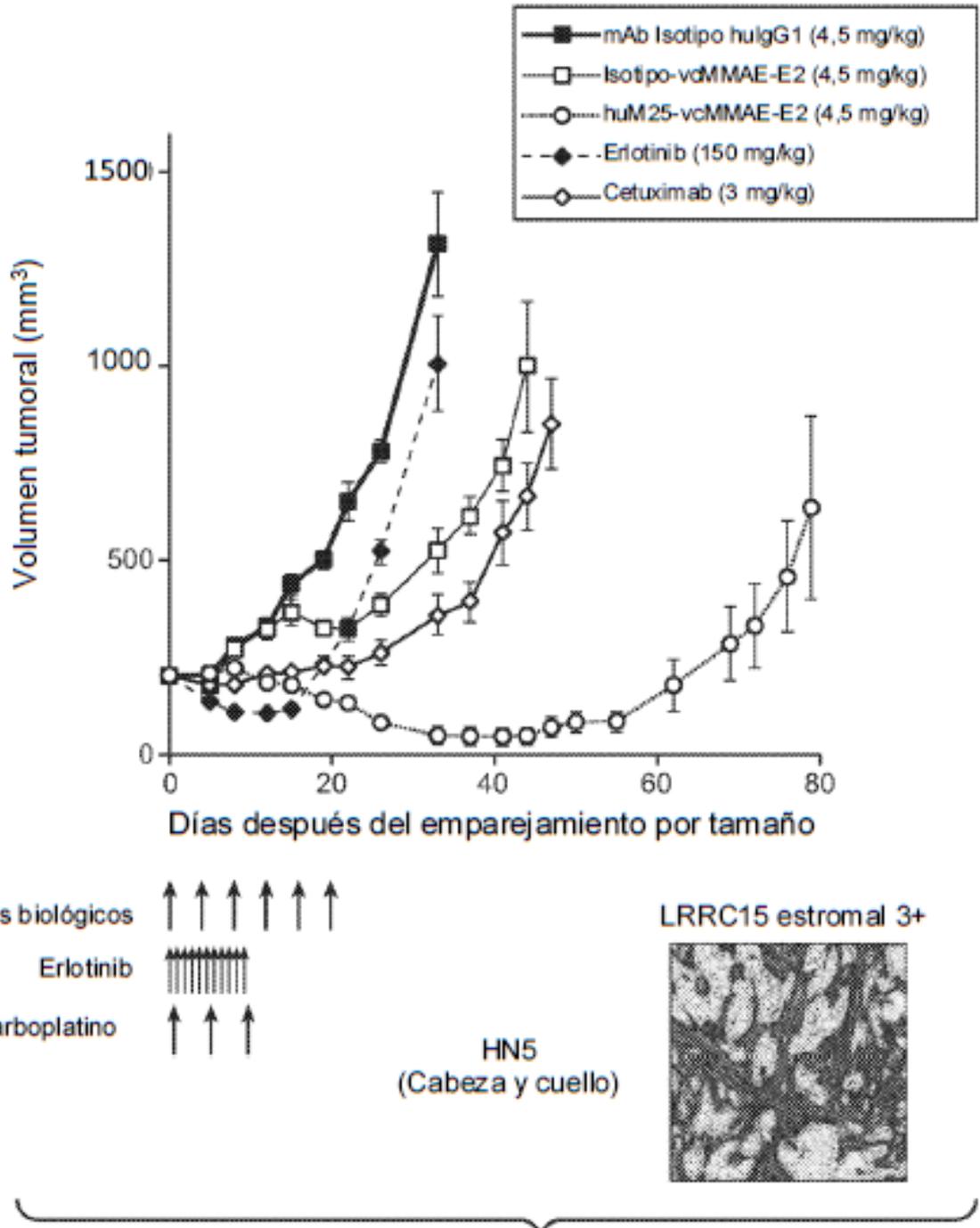


FIGURA 20B

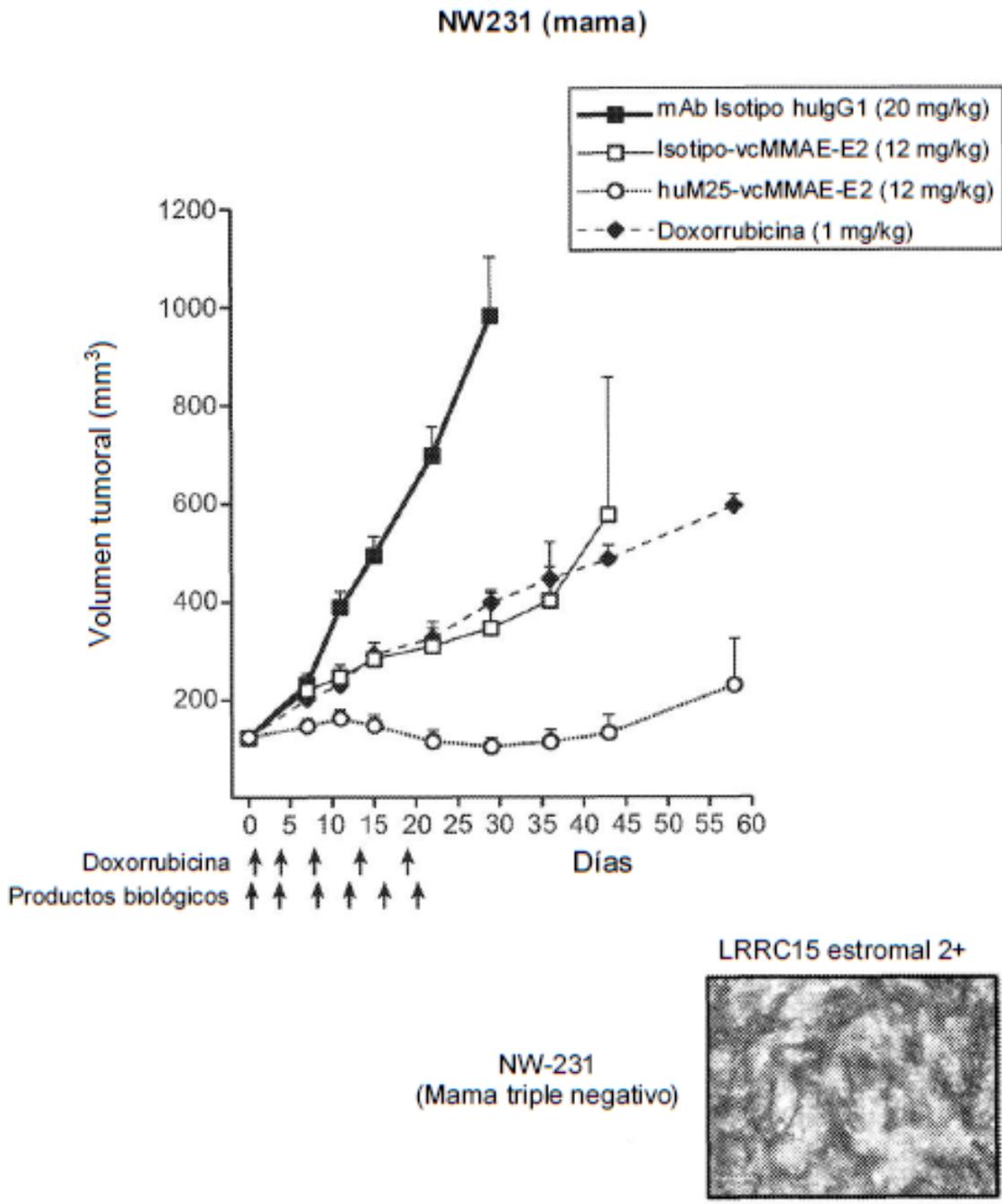


FIGURA 20D

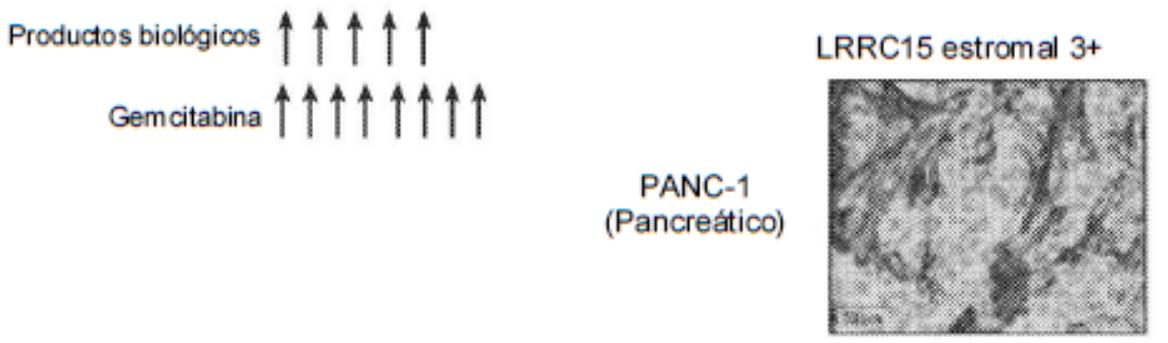
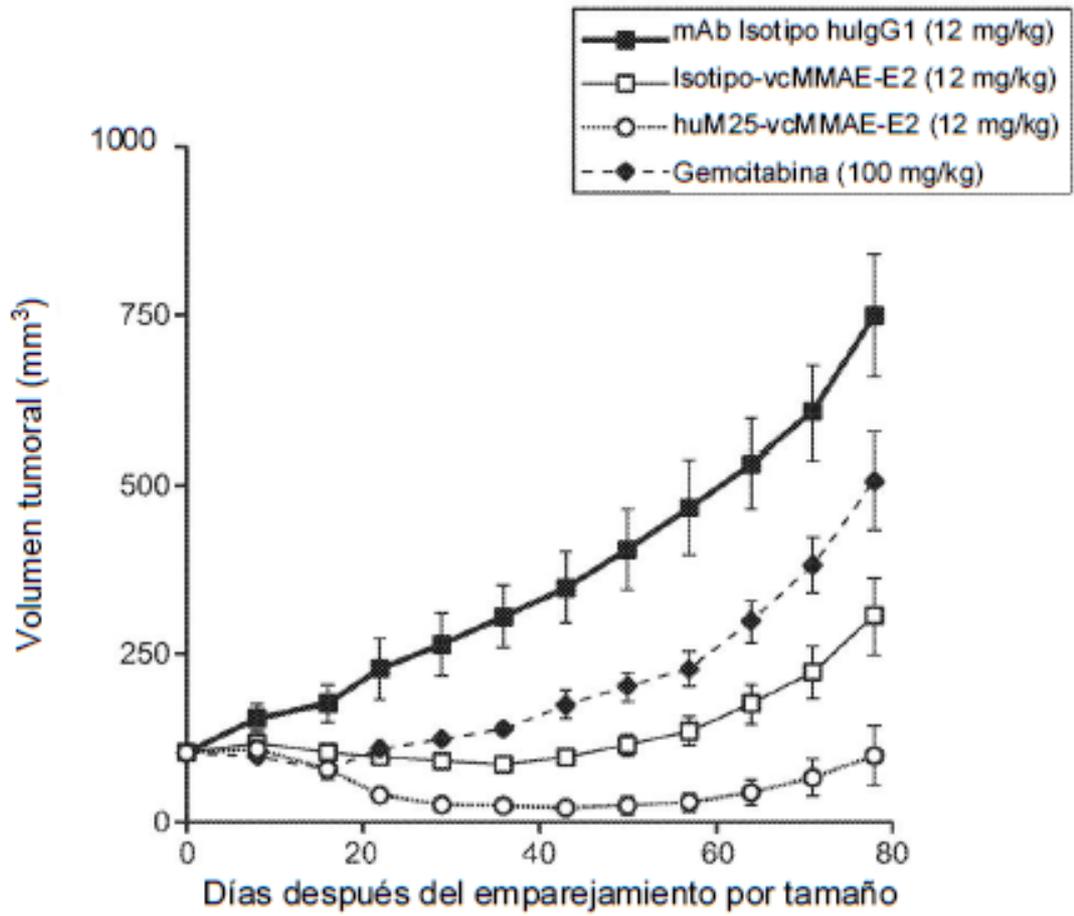


FIGURA 20E

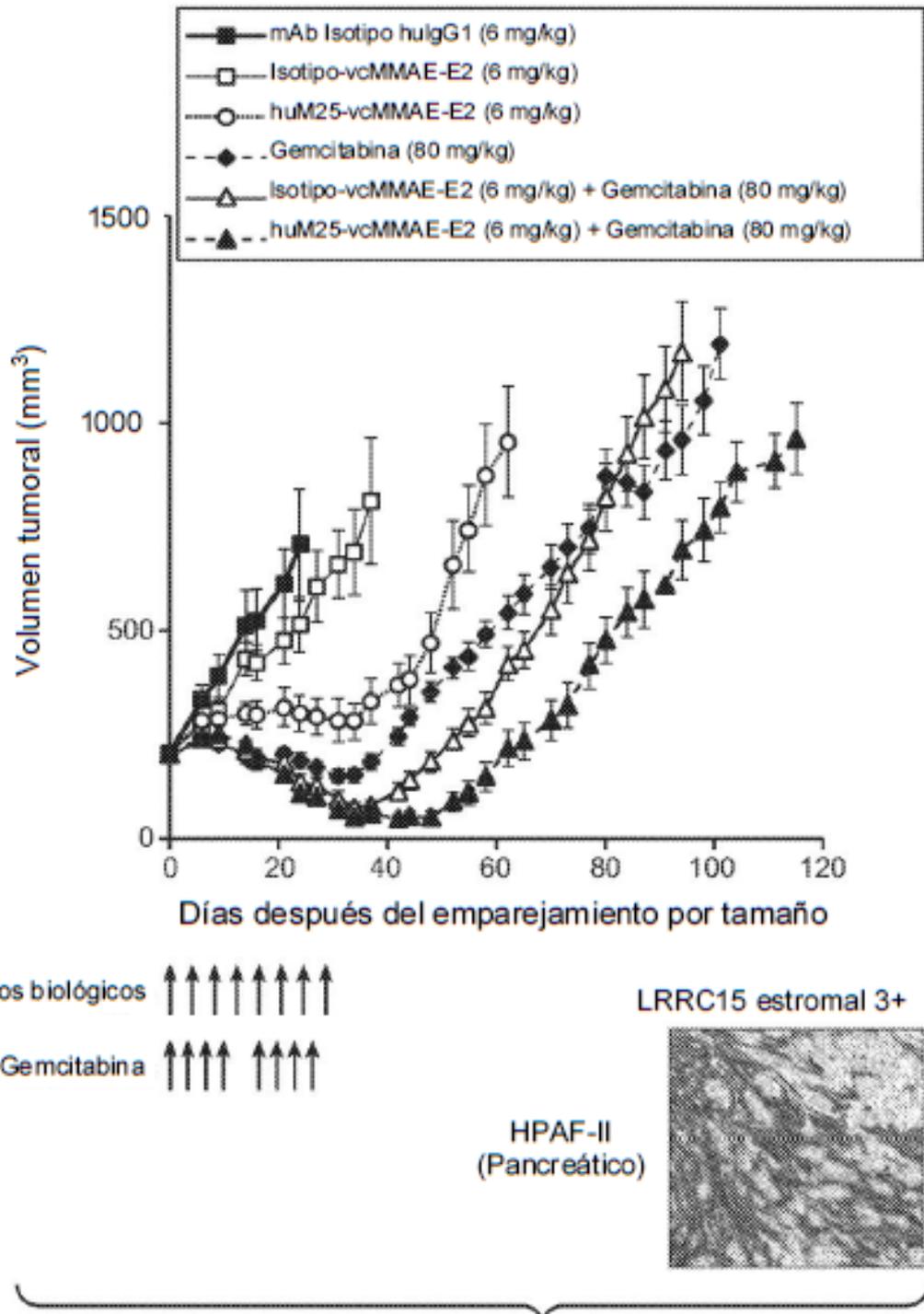
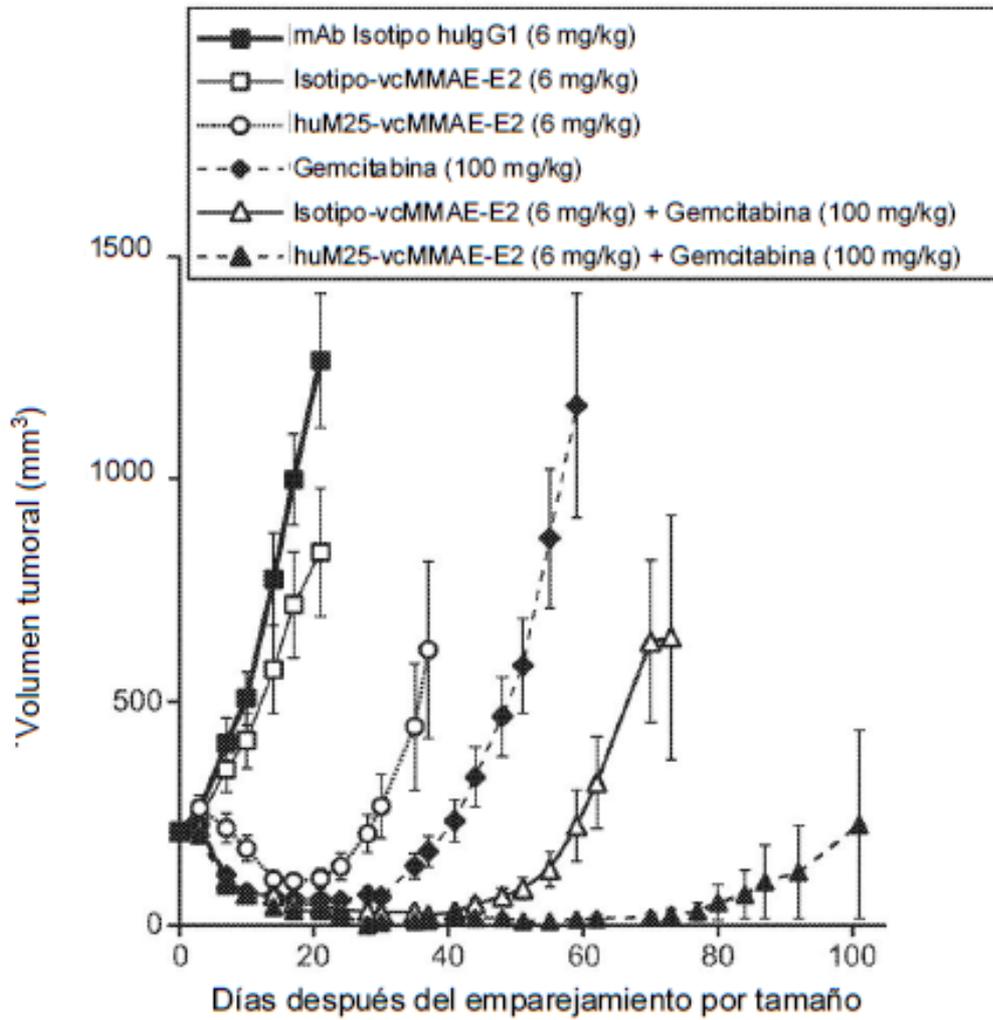


FIGURA 21A



Productos biológicos ↑ ↑

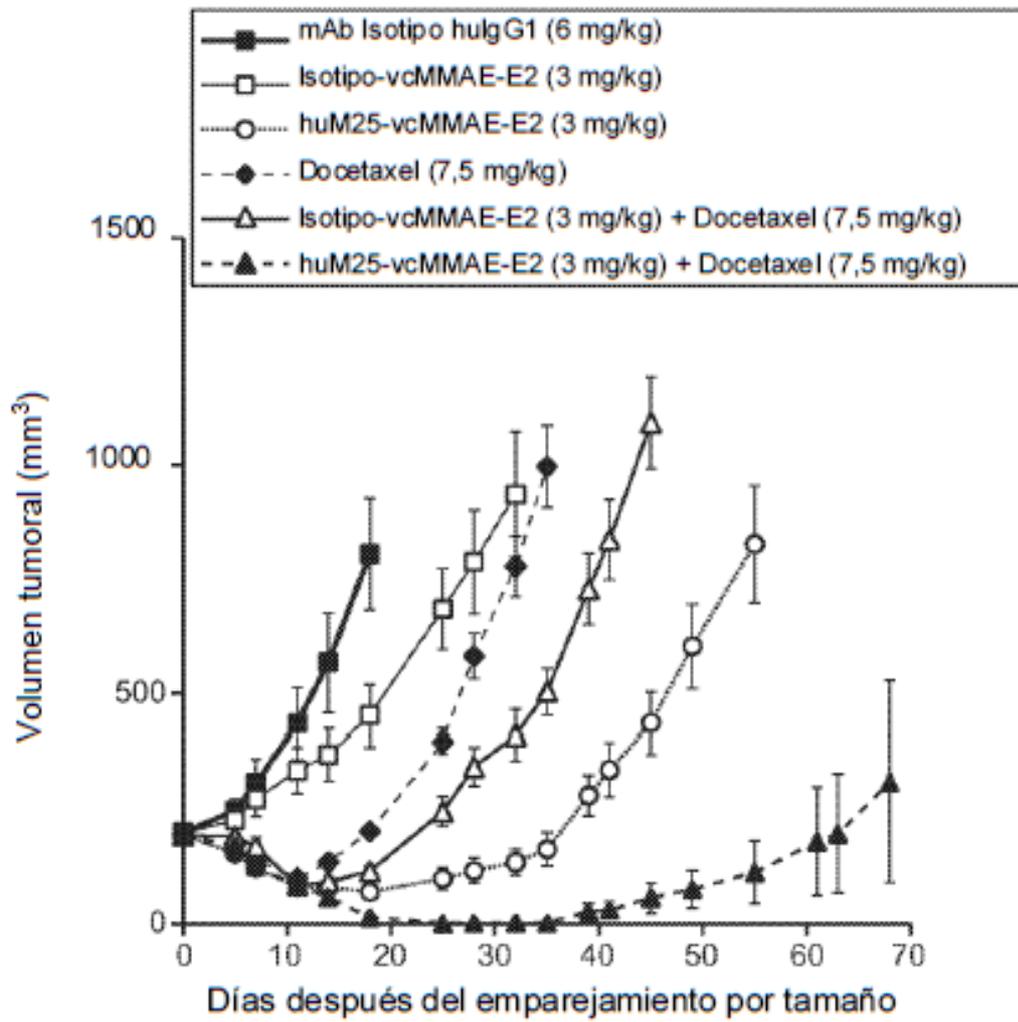
Gemcitabina ↑↑↑

LRRC15 estromal 3+



EBC-1
(NSCLC escamosas)

FIGURA 21B



Productos biológicos ↑ ↑ ↑ ↑ ↑ ↑
 Gemcitabina ↑

LRRC15 estromal 3+

EBC-1
 (NSCLC escamosas)



FIGURA 21C

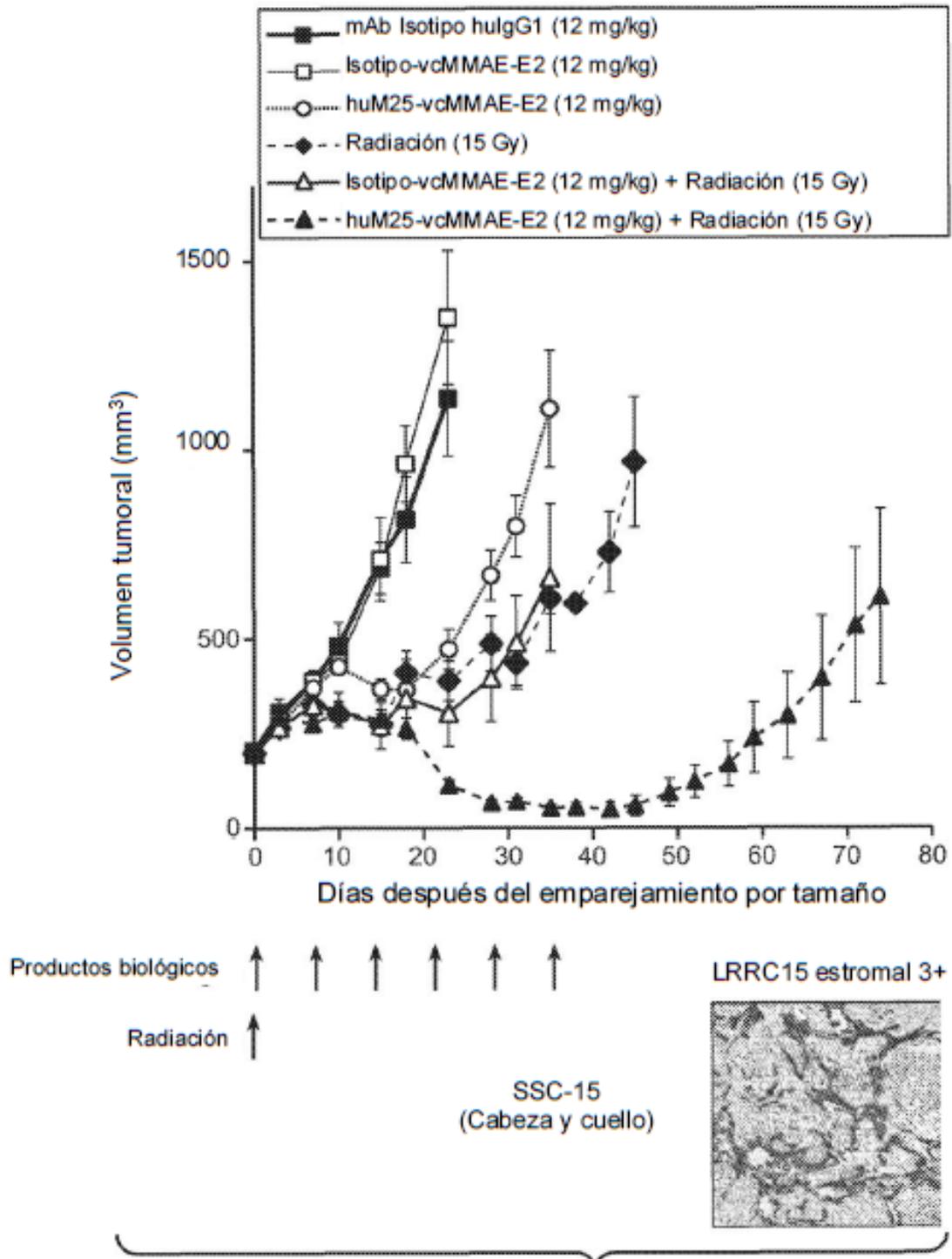


FIGURA 21D

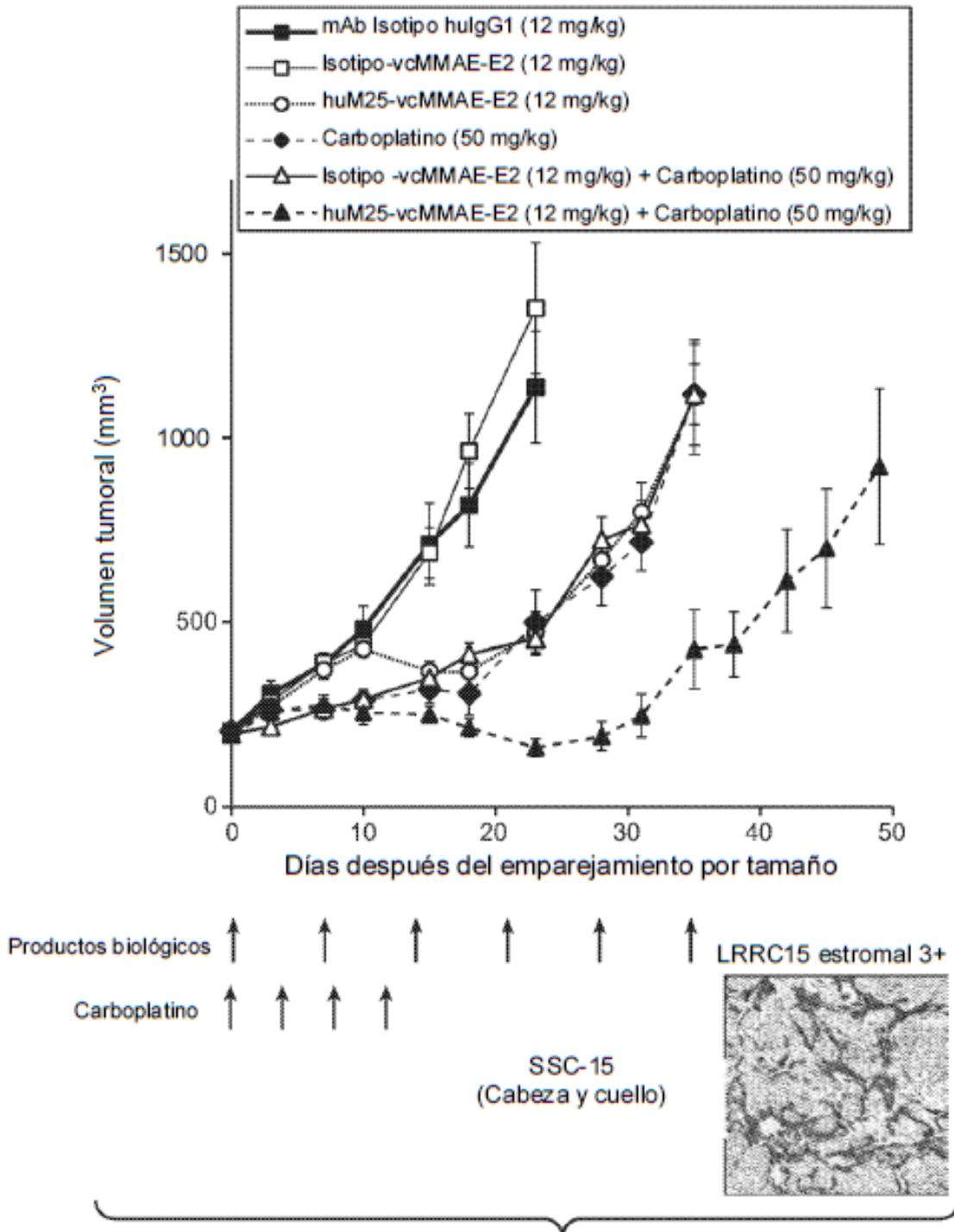


FIGURA 21E

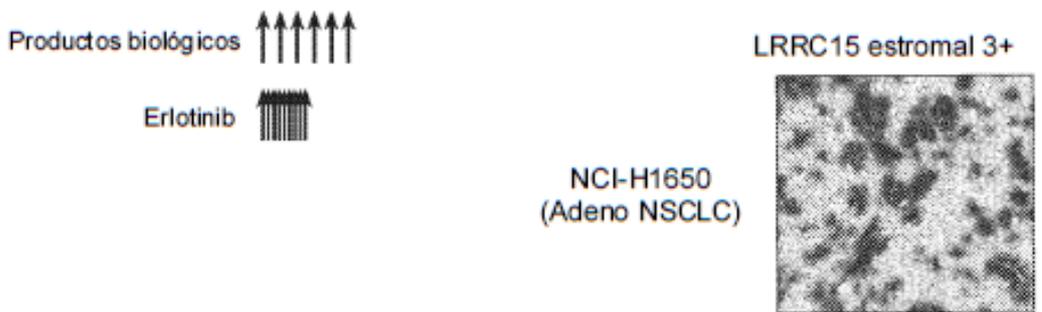
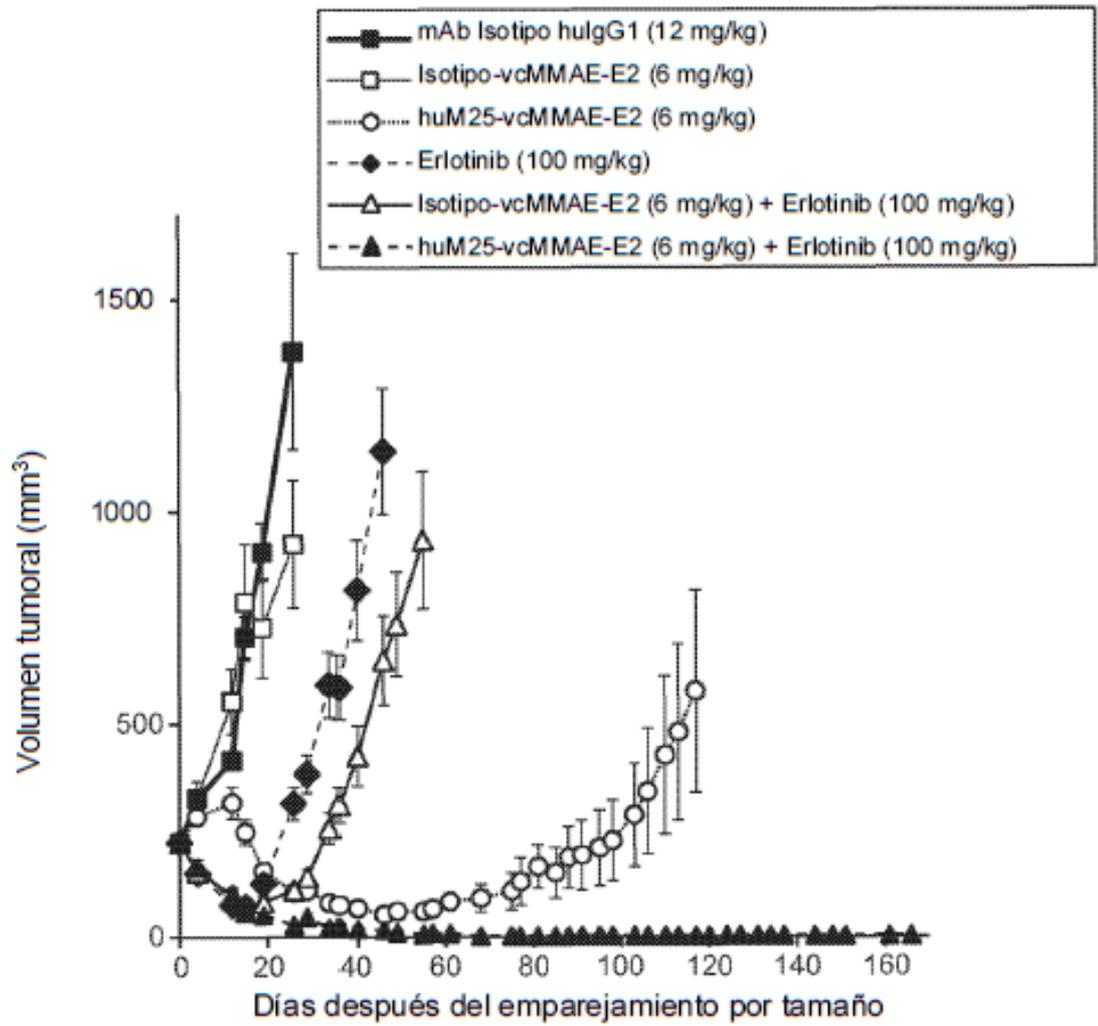


FIGURA 22A

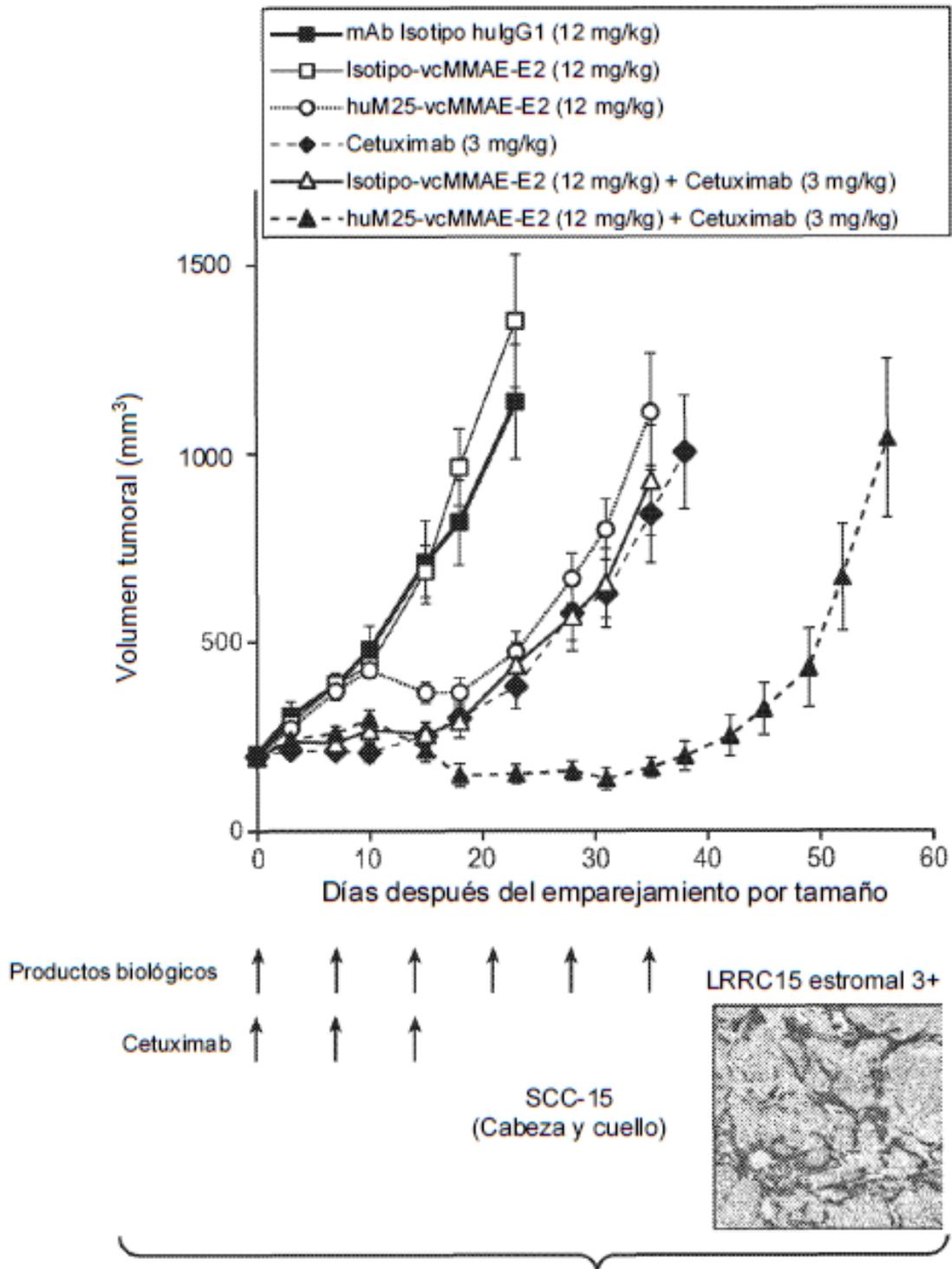


FIGURA 22B

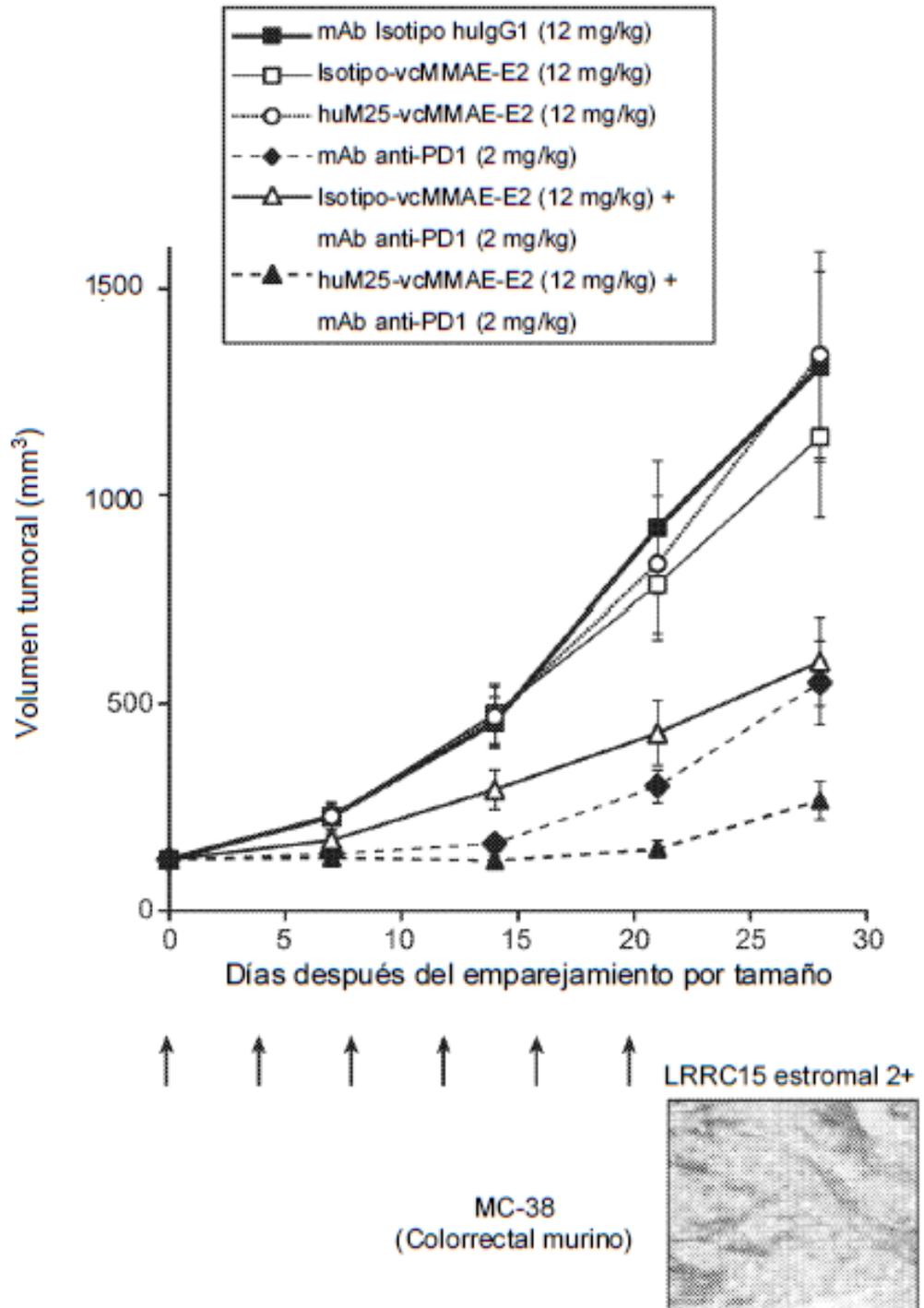


FIGURA 22C

**Eliminación de células (*In Vitro*)
3T12-huLRRC15 (Transfectante)**

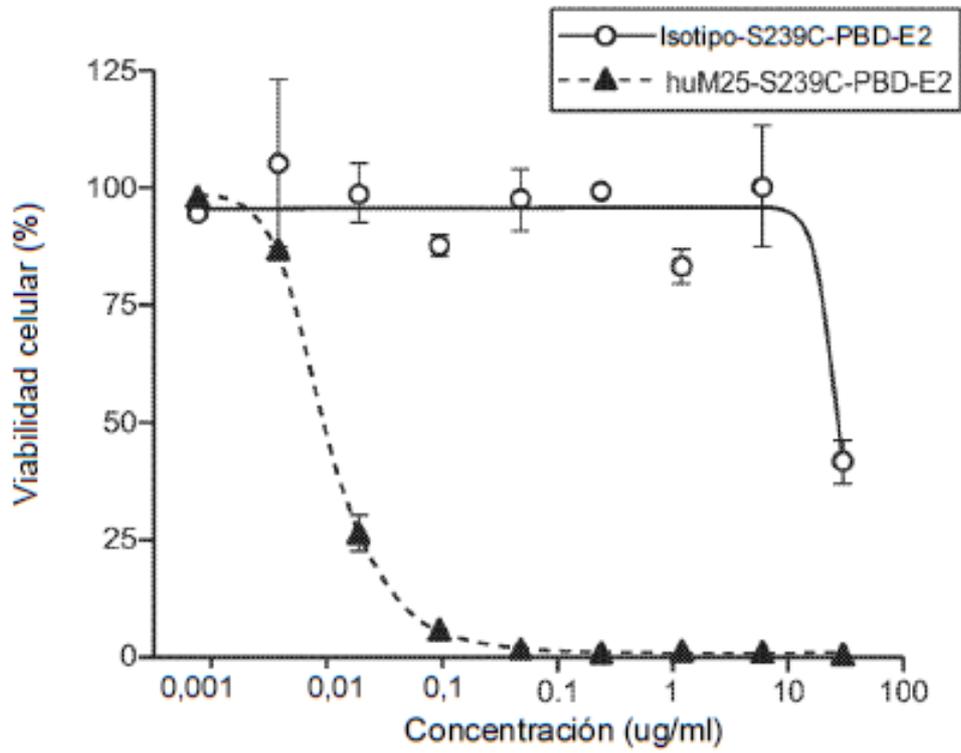


FIGURA 23A

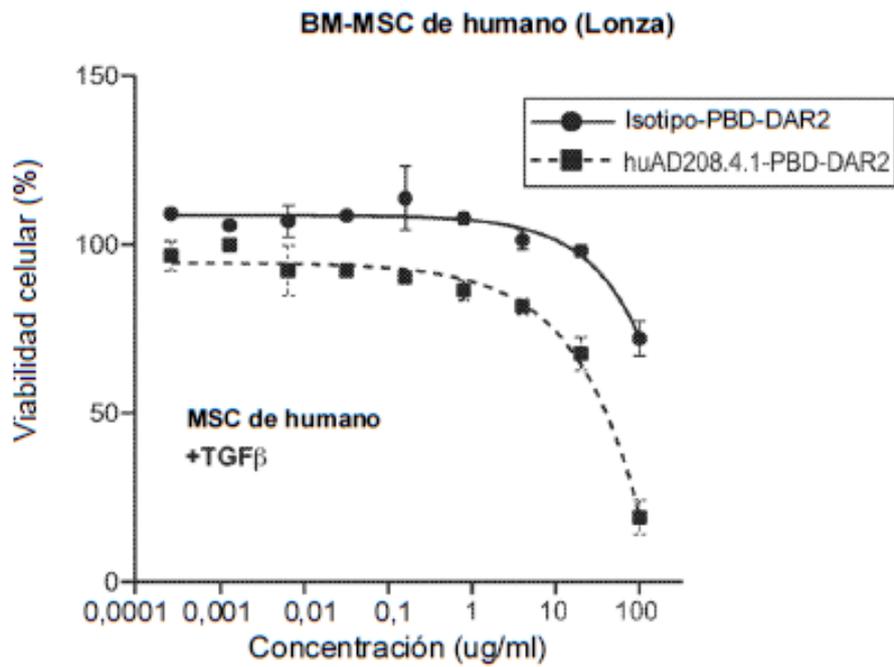


FIGURA 23B

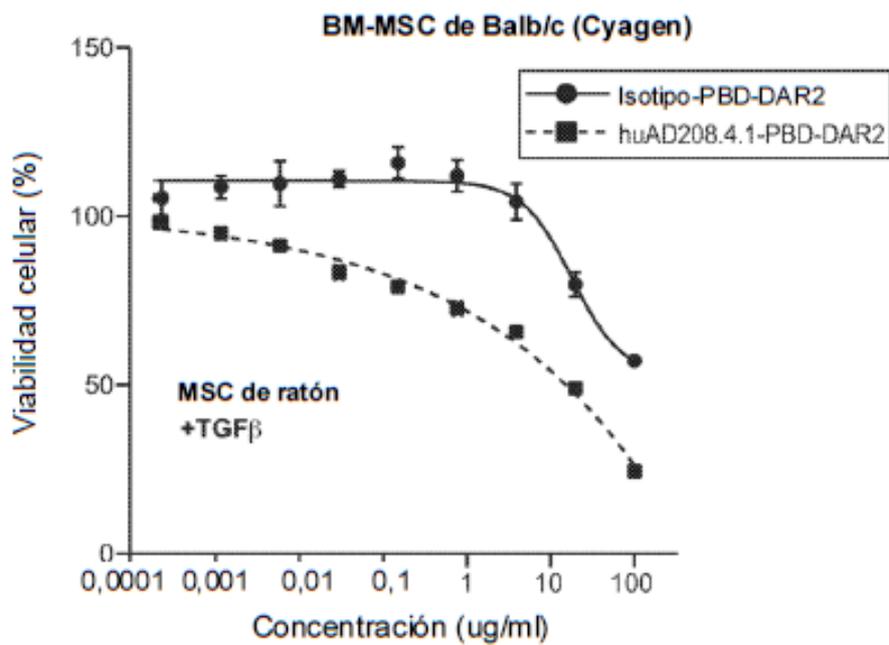


FIGURA 23C

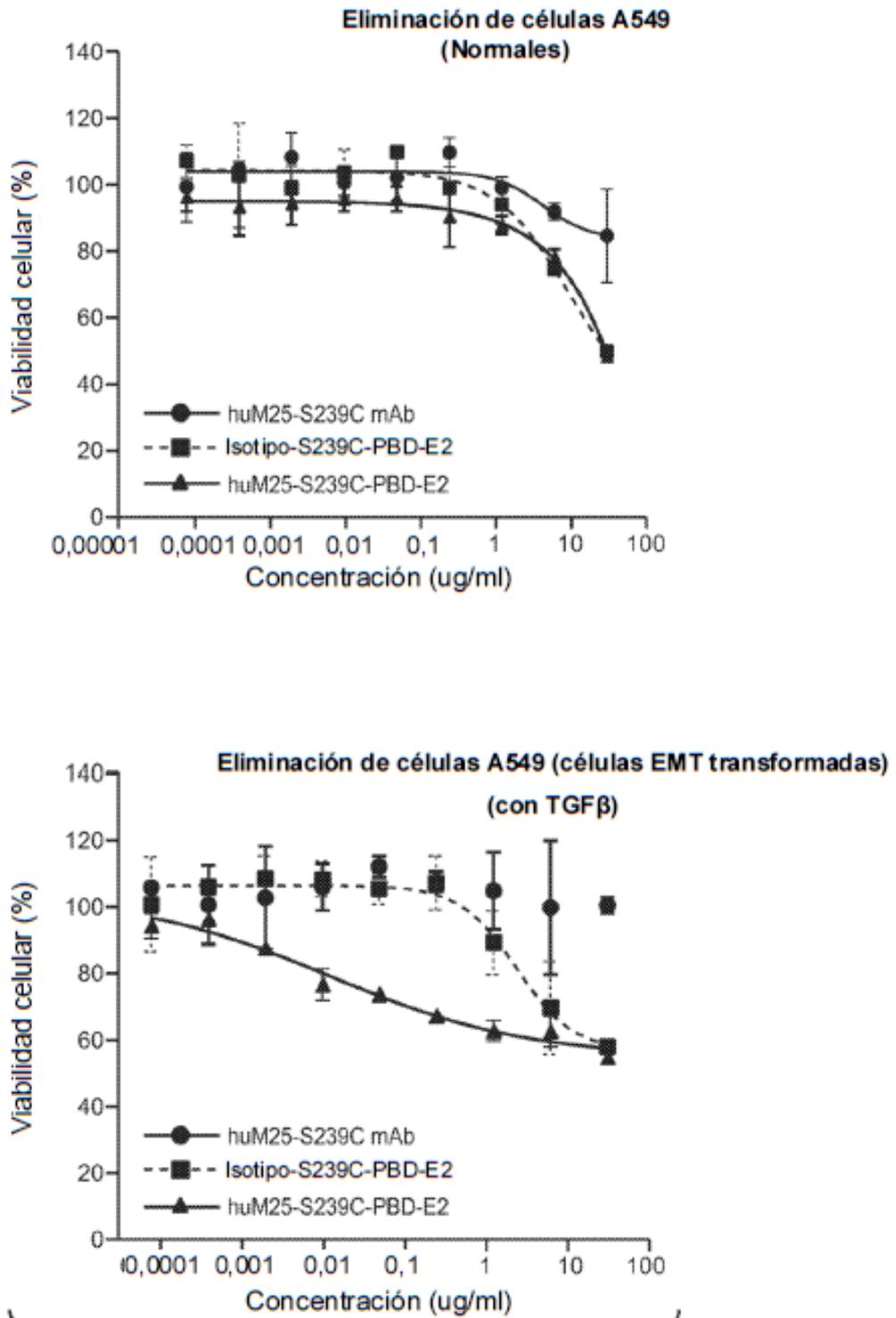
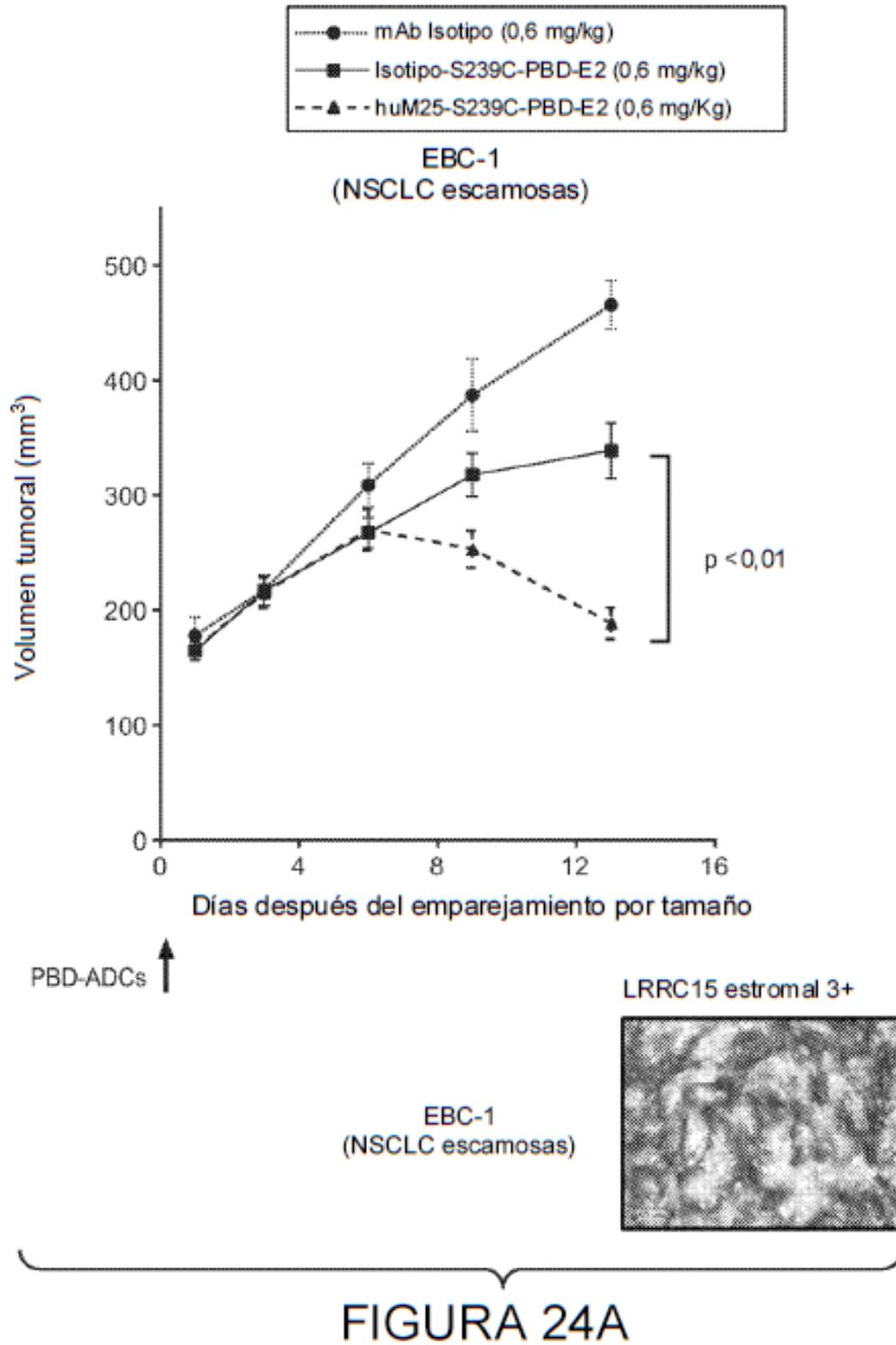


FIGURA 23D



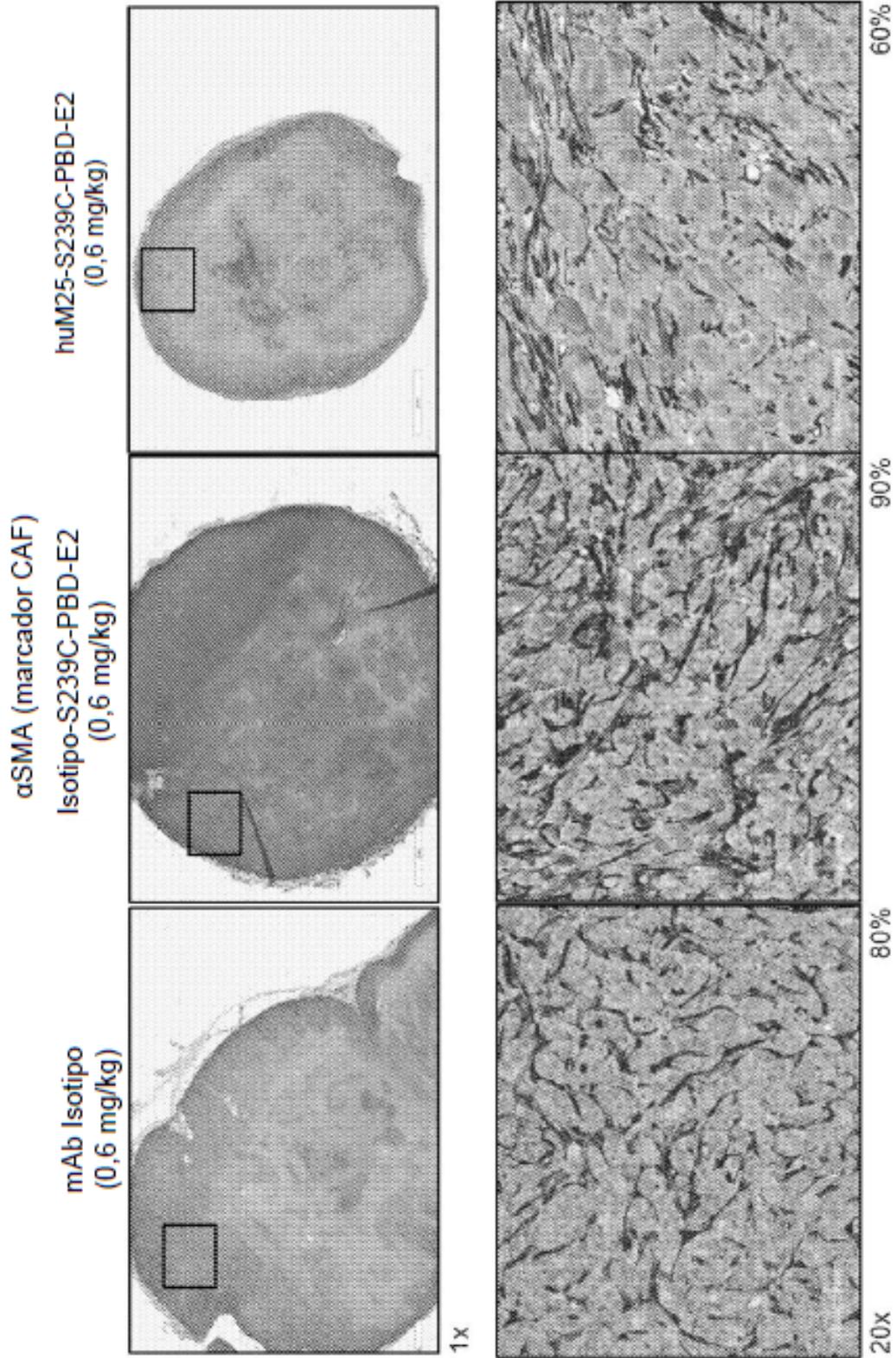


FIGURA 24B

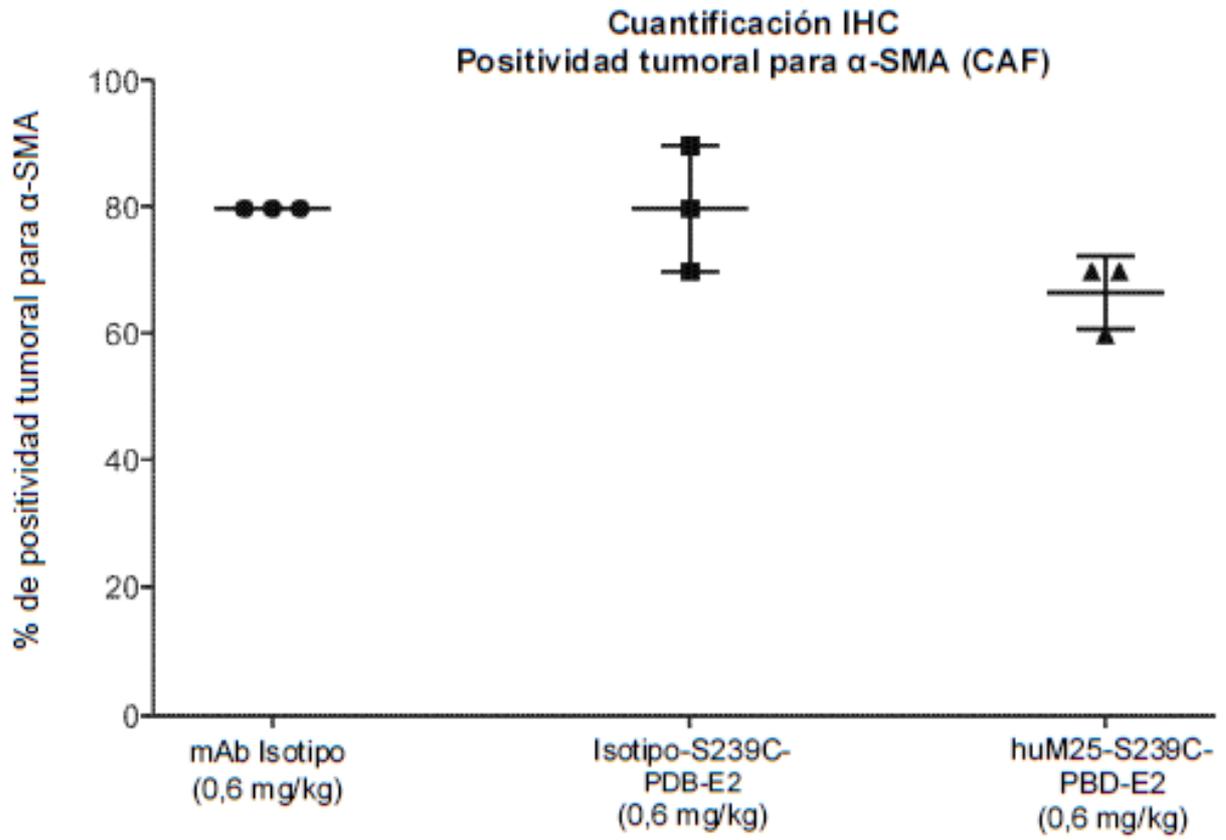


FIGURA 24C

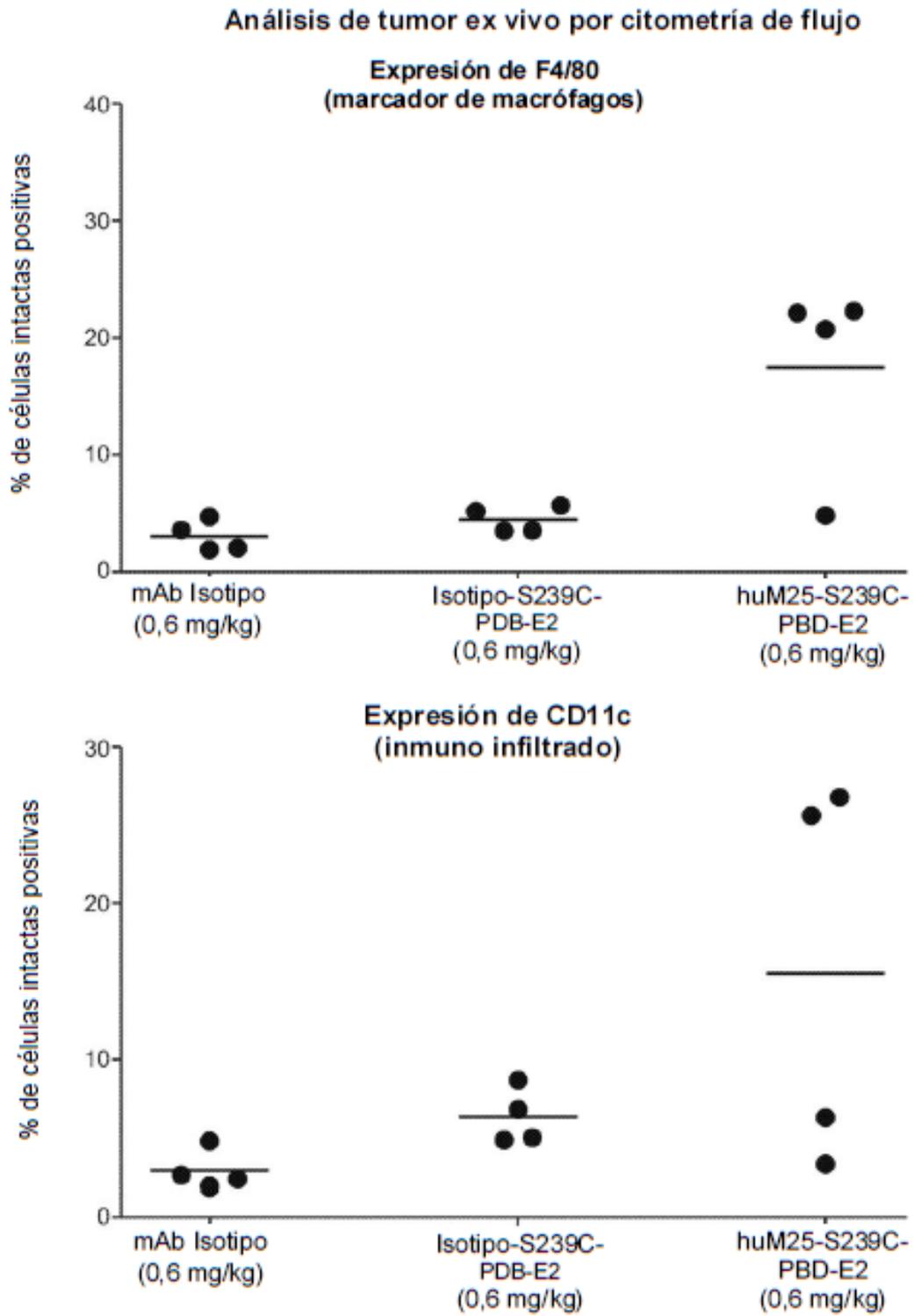
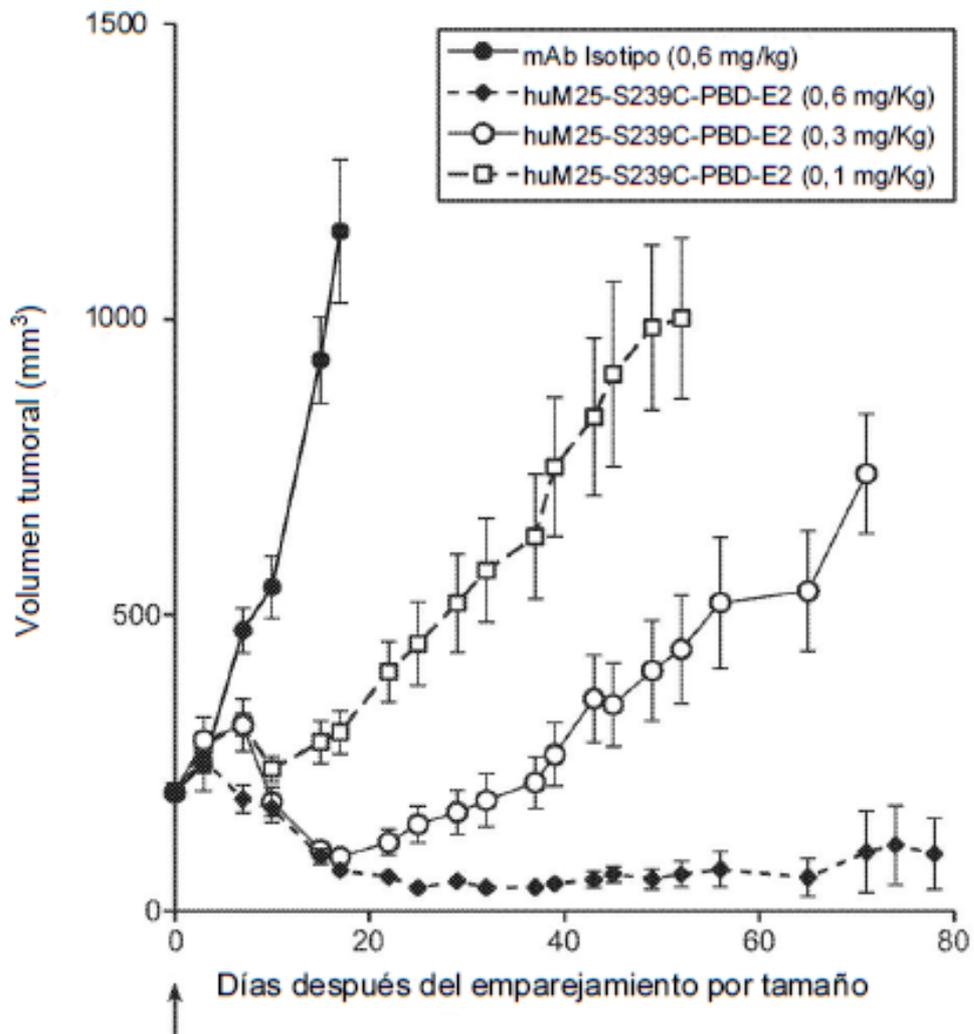


FIGURA 24D



LRRC15 estromal 3+

NCI-H1650
(Adeno NSCLC)

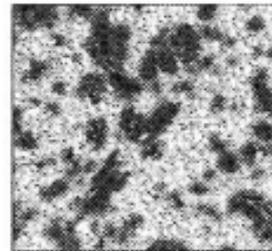
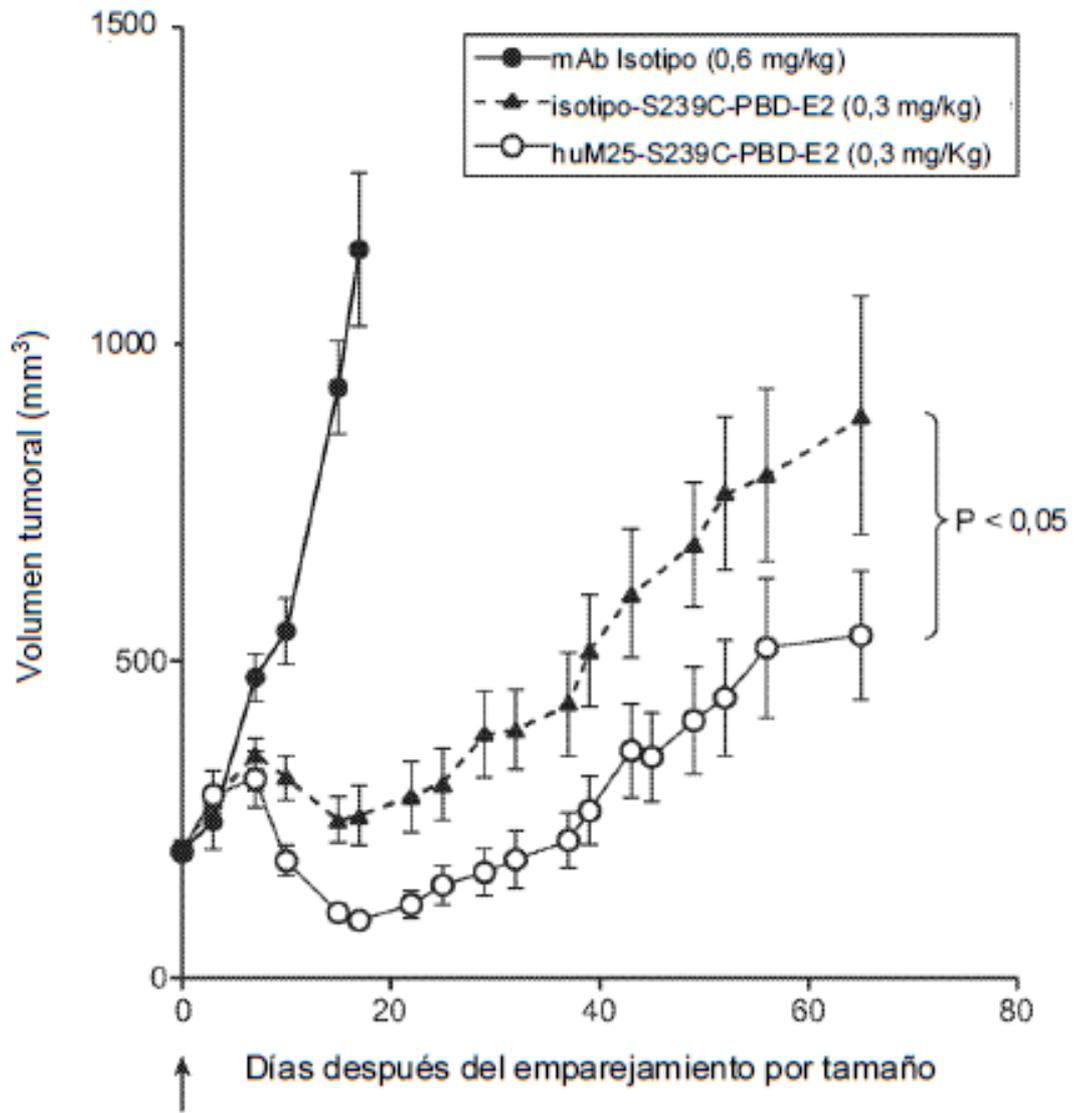


FIGURA 24E



LRRC15 estromal 3+

NCI-H1650
(Adeno NSCLC)

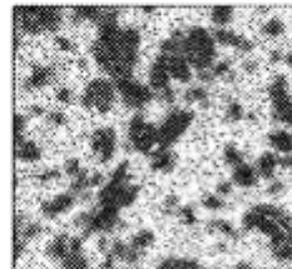


FIGURA 24F

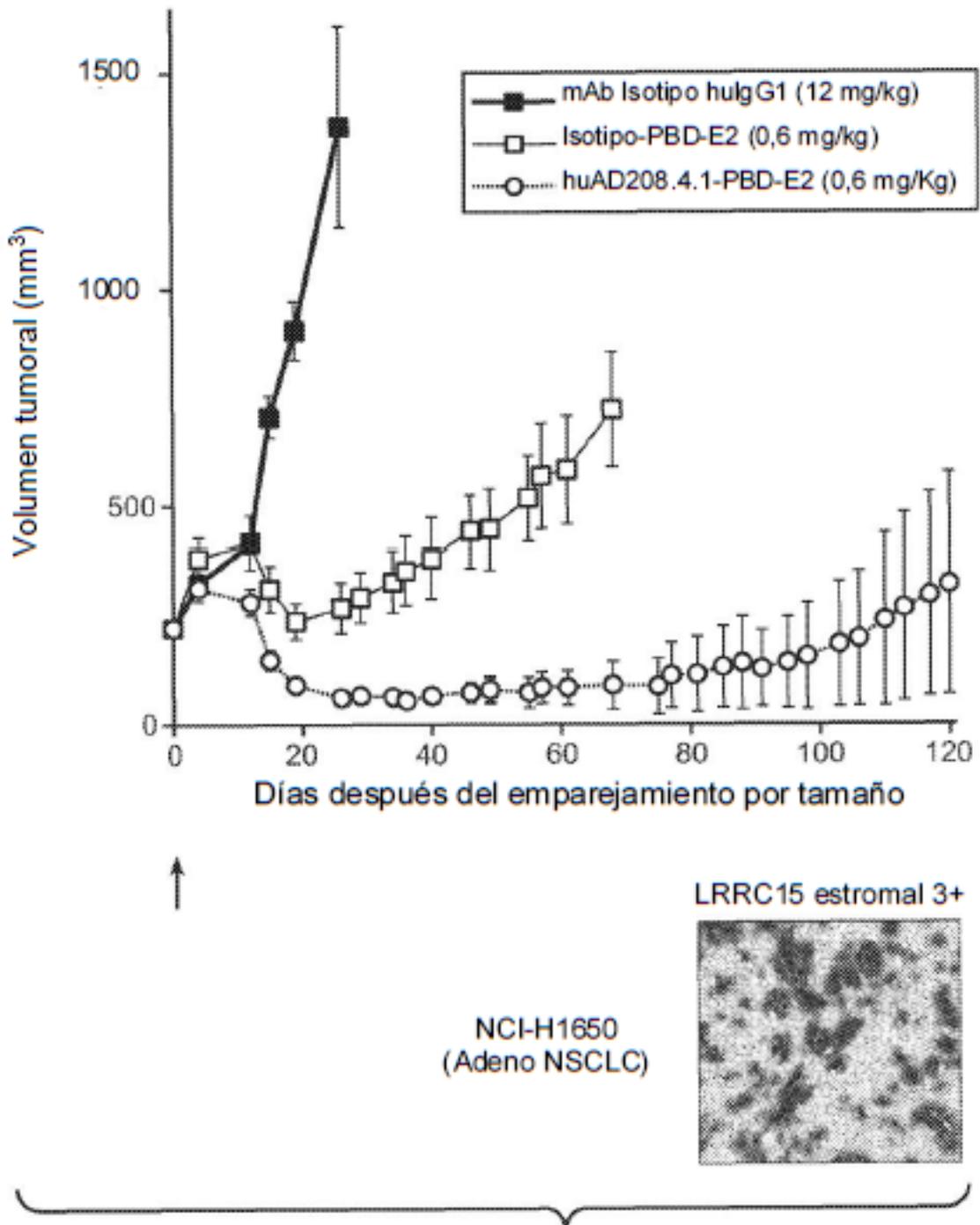


FIGURA 24G

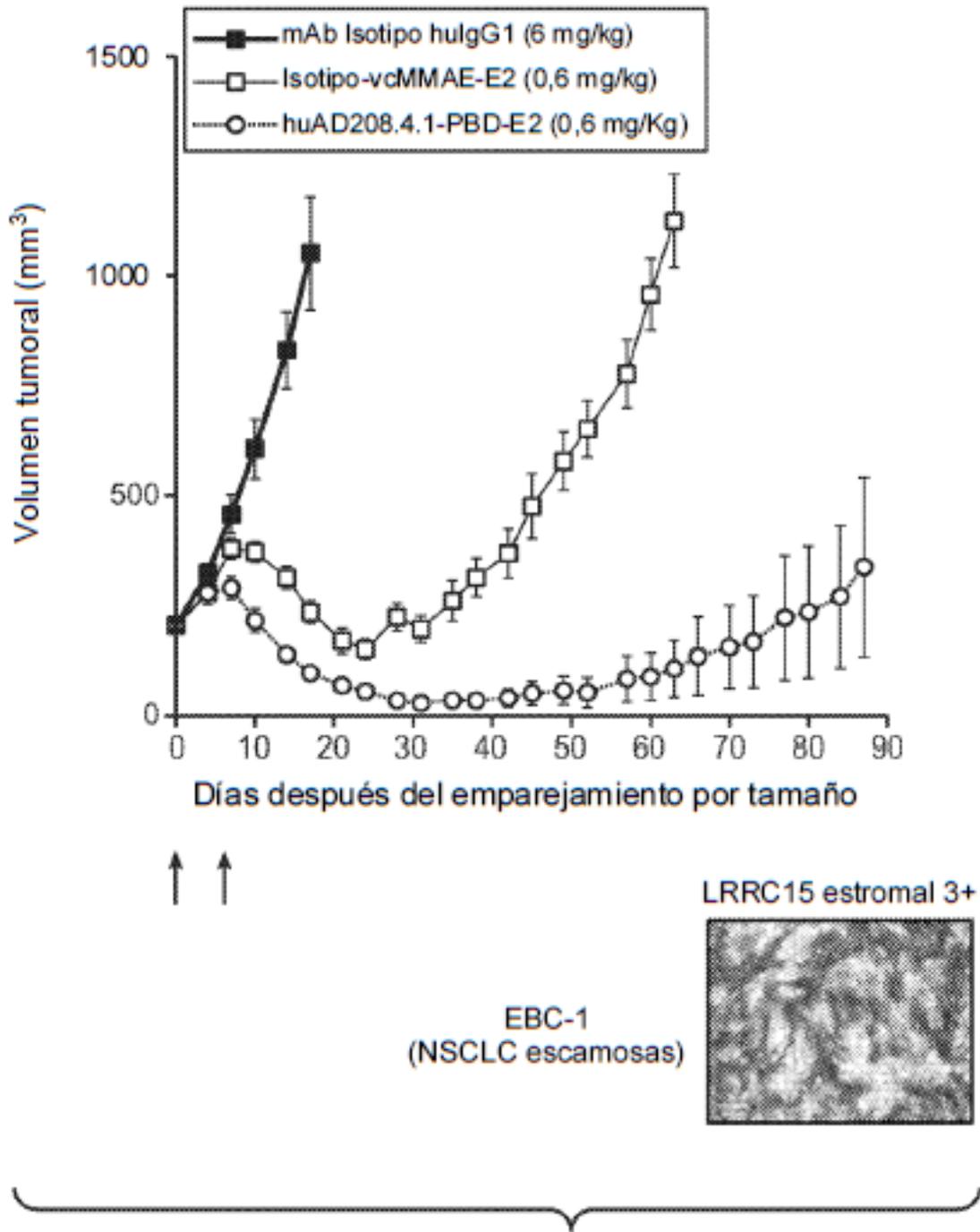


FIGURA 24H