

REIVNDICACIONES MODIFICADAS

1. UN DIACUERPO MONOVALENTE BIESPECÍFICO, donde dicho diacuerpo monovalente biespecífico puede unirse a un epítipo de gpA33 y a un epítipo de CD3, donde el diacuerpo monovalente biespecífico comprende una primera cadena polipeptídica y una segunda cadena polipeptídica, donde dichas primera y segunda cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí, y donde:

A. la primera cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal:

i. un dominio 1, que comprende un subdominio (1A) que, a su vez, comprende un dominio VL de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a CD3 (VL_{CD3}) (**SEQ ID NO:5**), y un subdominio (1B) que, a su vez, comprende un dominio VH de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a gpA33 (VH_{gpA33}) (**SEQ ID NO:27**); donde dichos subdominios (1A) y (1B) están separados uno del otro por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:1**);

ii. un dominio 2, donde dicho dominio 2 es un dominio enrollado K (**SEQ ID NO:4**) o un dominio enrollado E (**SEQ ID NO:3**), donde dicho dominio 2 está separado de dicho dominio 1 por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:2**);

B. la segunda cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal:

i. un dominio 1, que comprende un subdominio (1A) que, a su vez, comprende un dominio VL de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a gpA33 (VL_{gpA33}) (**SEQ ID NO:26**); y un subdominio (1B) que, a su vez, comprende un dominio VH de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a CD3 (VH_{CD3}) (**SEQ ID NO:25**); donde dichos subdominios (1A) y (1B) están separados uno del otro por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:1**);

ii. un dominio 2, donde dicho dominio 2 es un dominio enrollado E (**SEQ ID NO:3**) o un dominio enrollado K (**SEQ ID NO:4**), donde dicho dominio 2 está separado de dicho dominio 1 por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:2**); y donde dicho dominio 2 de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio 2 de dicha segunda cadena polipeptídica no son ambos dominios enrollados E ni son ambos dominios enrollados K;

y donde:

(a) dicho dominio VL de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio VH de dicha segunda cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno capaz de unirse a un epítipo de CD3 específico; y

(b) dicho dominio VH de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio VL de dicha segunda cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno capaz de unirse a un epítipo de gpA33 específico.

2. EL DIACUERPO MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE LA REIVINDICACIÓN 1, donde dicha primera cadena polipeptídica o la segunda cadena polipeptídica comprende un dominio de unión a albúmina (**SEQ ID NO:34**), dicho dominio de unión a albúmina posicionado en sentido del extremo C-terminal con respecto a dicho dominio 2 y separado de dicho dominio 2 por un ligador 3 (**SEQ ID NO:32**).

3. UN DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO, donde dicho diacuerpo Fc monovalente biespecífico puede unirse a un epítipo de gpA33 específico y a un epítipo de CD3 específico, y posee un dominio Fc IgG, donde el diacuerpo Fc monovalente biespecífico comprende una primera cadena polipeptídica, una segunda cadena polipeptídica y una tercera cadena polipeptídica, donde dichas primera y segunda cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí y dichas primera y tercera cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí, y donde:

A. la primera cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal:

i. un dominio 1, que comprende un subdominio (1A) que, a su vez, comprende un dominio VL de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a gpA33 (VL_{gpA33}) (**SEQ ID NO:26**); y un subdominio (1B) que, a su vez, comprende un dominio VH de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a CD3 (VH_{CD3}) (**SEQ ID NO:25**); donde dichos subdominios (1A) y (1B) están separados uno del otro por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:1**);

ii. un dominio 2, donde dicho dominio 2 es un dominio enrollado E (**SEQ ID NO:3**) o un dominio enrollado K (**SEQ ID NO:4**), donde dicho dominio 2 está separado de dicho dominio 1 por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:2**); y

iii. un dominio 3, que comprende un subdominio (3A) que, a su vez, comprende un péptido que contiene cisteína (péptido 1) (**SEQ ID NO:39**); y un subdominio (3B) que, a su vez, comprende una porción polipeptídica de un dominio Fc de IgG con los dominios CH2 y CH3 de un dominio Fc de IgG; donde dichos dominios 3 y 2 están separados uno del otro por un espaciador peptídico (ligador 5) (**SEQ ID NO:33**);

B. la segunda cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal:

i. un dominio 1, que comprende un subdominio (1A) que, a su vez, comprende un dominio VL de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a CD3 (VL_{CD3}) (**SEQ ID NO:5**), y un subdominio (1B) que, a su vez, comprende un dominio VH de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a gpA33 (VH_{gpA33}) (**SEQ ID NO:27**); donde dichos subdominios (1A) y (1B) están separados uno del otro por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:1**);

ii. un dominio 2, donde dicho dominio 2 es un dominio enrollado K (**SEQ ID NO:4**) o un dominio enrollado E (**SEQ ID NO:3**), donde dicho dominio 2 está separado de dicho dominio 1 por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:2**); y donde dicho dominio 2 de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio 2 de dicha segunda cadena polipeptídica no son ambos dominios enrollados E ni son ambos dominios enrollados K; y

C. la tercera cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal, un dominio 3 que comprende:

(1) un subdominio (3A) que, a su vez, comprende un péptido que contiene cisteína (péptido 1) (**SEQ ID NO:39**); y

(2) un subdominio (3B) que, a su vez, comprende una porción polipeptídica de un dominio Fc de IgG con los dominios CH2 y CH3 de un dominio Fc de IgG;

y donde:

(a) dichas porciones polipeptídicas de los dominios Fc de IgG de dichas primera y tercera cadenas polipeptídicas forman dicho dominio Fc de IgG;

(b) dicho dominio VL de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio VH de dicha segunda cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno capaz de unirse a un epítipo de gpA33 específico; y

(c) dicho dominio VH de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio VL de dicha segunda cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno capaz de unirse a un epítipo de CD3 específico.

4. UN DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO, donde dicho diacuerpo Fc monovalente biespecífico puede unirse a un epítipo de gpA33 específico y a un epítipo de CD3 específico, y posee un dominio Fc IgG, donde el diacuerpo Fc monovalente biespecífico comprende una primera cadena polipeptídica, una segunda cadena polipeptídica y una tercera cadena polipeptídica, donde dichas primera y segunda cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí y dichas primera y tercera cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí, y donde:

A. la primera cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal:

i. un dominio 3, que comprende un subdominio (3A) que, a su vez, comprende un péptido que contiene cisteína (péptido 1) (**SEQ ID NO:39**); y un subdominio (3B) que, a su vez, comprende una porción polipeptídica de un dominio Fc de IgG con los dominios CH2 y CH3 de un dominio Fc de IgG;

ii. un dominio 1, que comprende un subdominio (1A) que, a su vez, comprende un dominio VL de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a gpA33 (VL_{gpA33}) (**SEQ ID NO:26**); y un subdominio (1B) que, a su vez, comprende un dominio VH de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a CD3 (VH_{CD3}) (**SEQ ID NO:25**); donde dichos subdominios (1A) y (1B) están separados uno del otro por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:1**);

donde dichos dominios 1 y 3 están separados uno del otro por un espaciador peptídico (ligador 4) (**SEQ ID NO:38**);

iii. un dominio 2, donde dicho dominio 2 es un dominio enrollado E (**SEQ ID NO:3**) o un dominio enrollado K (**SEQ ID NO:4**), donde dicho dominio 2 está separado de dicho dominio 1 por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:2**); y

B. la segunda cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal:

i. un dominio 1, que comprende un subdominio (1A) que, a su vez, comprende un dominio VL de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a CD3 (VL_{CD3}) (**SEQ ID NO:5**), y un subdominio (1B) que, a su vez, comprende un dominio VH de un anticuerpo monoclonal capaz de unirse a gpA33 (VH_{gpA33}) (**SEQ ID NO:27**); donde dichos subdominios (1A) y (1B) están separados uno del otro por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:1**);

ii. un dominio 2, donde dicho dominio 2 es un dominio enrollado K (**SEQ ID NO:4**) o un dominio enrollado E (**SEQ ID NO:3**), donde dicho dominio 2 está separado de dicho dominio 1 por un ligador peptídico (**SEQ ID NO:2**); y donde dicho dominio 2 de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio 2 de dicha segunda cadena polipeptídica no son ambos dominios enrollados E ni son ambos dominios enrollados K; y

C. la tercera cadena polipeptídica comprende, en el sentido del extremo N-terminal al extremo C-terminal, un dominio 3 que comprende:

(1) un subdominio (3A) que, a su vez, comprende un péptido que contiene cisteína (péptido 1) (**SEQ ID NO:39**); y

(2) un subdominio (3B) que, a su vez, comprende una porción polipeptídica de un dominio Fc de IgG con los dominios CH2 y CH3 de un dominio Fc de IgG;

y donde:

(a) dichas porciones polipeptídicas de los dominios Fc de IgG de dichas primera y tercera cadenas polipeptídicas forman dicho dominio Fc de IgG;

(b) dicho dominio VL de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio VH de dicha segunda cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno capaz de unirse a un epítipo de gpA33 específico; y

(c) dicho dominio VH de dicha primera cadena polipeptídica y dicho dominio VL de dicha segunda cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno capaz de unirse a un epítipo de CD3 específico.

5. EL DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE CUALQUIERA DE LAS REIVINDICACIONES 3 Y 4, donde dicho subdominio (3B) de dicha primera cadena polipeptídica comprende una secuencia diferente de la de dicho subdominio (3B) de dicha tercera cadena polipeptídica.

6. EL DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE LA REIVINDICACIÓN 5, donde dicho subdominio (3B) de dicha primera cadena polipeptídica tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:40** y dicho subdominio (3B) de dicha tercera cadena polipeptídica tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:41**.

7. EL DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE LA REIVINDICACIÓN 5, donde dicho subdominio (3B) de dicha primera cadena polipeptídica tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:41** y dicho subdominio (3B) de dicha tercera cadena polipeptídica tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:40**.

8. EL DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE CUALQUIERA DE LAS REIVINDICACIONES 3 Y 4, donde dicho dominio 3 de dicha primera cadena polipeptídica y/o dicho dominio 3 de dicha tercera cadena polipeptídica comprenden una variante de secuencia CH2-CH3 que exhibe una unión modificada a un receptor Fcγ.

9. EL DIACUERPO MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE CUALQUIERA DE LAS REIVINDICACIONES 2 Y 2 O EL DIACUERPO FC MONOVALENTE

BIESPECÍFICO DE CUALQUIERA DE LAS REIVINDICACIONES 3 A 8, donde dicho dominio 2 de dicha primera cadena polipeptídica comprende un enrollado E (**SEQ ID NO:3**), y dicho dominio 2 de dicha segunda cadena polipeptídica comprende un enrollado K (**SEQ ID NO:4**).

10. EL DIACUERPO MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE CUALQUIERA DE LAS REIVINDICACIONES 2 Y 2 O EL DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO DE CUALQUIERA DE LAS REIVINDICACIONES 3 A 8, donde dicho dominio 2 de dicha primera cadena polipeptídica comprende un enrollado K (**SEQ ID NO:4**), y dicho dominio 2 de dicha segunda cadena polipeptídica comprende un enrollado E (**SEQ ID NO:3**).

11. UN DIACUERPO MONOVALENTE BIESPECÍFICO, DONDE DICHO DIACUERPO MONOVALENTE BIESPECÍFICO PUEDE UNIRSE A UN EPÍTOPO DE CD3 Y A UN EPÍTOPO DE GPA33, donde dicho diacuerpo monovalente biespecífico comprende:

(1) una primera cadena polipeptídica con la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:28**, y una segunda cadena polipeptídica con tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:30**; o

(2) una primera cadena polipeptídica con la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:35**, y una segunda cadena polipeptídica con tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:30**;

donde dicha primera y dicha segunda cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí por un enlace de disulfuro.

12. UN DIACUERPO FC MONOVALENTE BIESPECÍFICO, donde dicho diacuerpo Fc monovalente biespecífico puede unirse a un epítipo de CD3 y a un epítipo de gpA33, y posee un dominio Fc de IgG, donde dicho diacuerpo Fc monovalente biespecífico comprende:

(1) una primera cadena polipeptídica con la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:42**, una segunda cadena polipeptídica con tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:44** y una tercera cadena polipeptídica con tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:46**; o

(2) una primera cadena polipeptídica con la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:48**, una segunda cadena polipeptídica con tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:28** y una tercera cadena polipeptídica con tiene la secuencia de aminoácidos **SEQ ID NO:46**;

donde dicha primera y dicha segunda cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí por un primer enlace de disulfuro y dichas

primera y tercera cadenas polipeptídicas están enlazadas covalentemente entre sí por un segundo enlace de disulfuro.

13. Una composición farmacéutica que comprende el diacuerpo monovalente biespecífico de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2 o 9 a 11 o el diacuerpo Fc monovalente biespecífico de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 10 o 12; y un vehículo fisiológicamente aceptable.

14. Una célula que exprese una cadena polipeptídica de cualquiera de los diacuerpos monovalentes biespecíficos de las reivindicaciones 1 y 2 o 9 a 11 o una cadena polipeptídica de cualquiera de los diacuerpos Fc monovalentes biespecíficos de las reivindicaciones 3 a 10 o 12.

15. UN POLINUCLEÓTIDO QUE CODIFIQUE EL POLIPÉPTIDO DE LA REIVINDICACIÓN 16.

16. UNA CÉLULA QUE EXPRESE UN ANTICUERPO O UNA PORCIÓN O FRAGMENTO POLIPEPTÍDICO DEL MISMO, donde el anticuerpo se une a gpA33, y donde el anticuerpo o la porción o fragmento polipeptídico del mismo comprende:

(1) CDR1 (**SEQ ID NO:14**), CDR2 (**SEQ ID NO:15**) y CDR3 (**SEQ ID NO:16**) de una cadena ligera de un anticuerpo anti-gpA33 humano;

(2) CDR1 (**SEQ ID NO:18**), CDR2 (**SEQ ID NO:19**) y CDR3 (**SEQ ID NO:20**) de una cadena pesada de un anticuerpo anti-gpA33 humano; o

(3) ambos, (1) y (2).