

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-MFI2 que comprende:

(a) tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 101;

(b) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 25 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 27;

(c) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 29 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 31;

(d) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 33 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 35;

(e) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 37 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 39;

(f) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 41 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 43;

(g) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 45 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 47;

(h) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 49 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 51;

(i) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 53 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 55;

(j) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 57 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 59;

(k) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 61 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 63;

(l) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 65 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 67;

(m) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 69 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 71;

(n) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 73 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 75;

(o) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 77 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 79;

(p) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 81 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 83;

(q) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 85 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 87;

(r) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 89 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 91;

(s) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 93 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 95;

(t) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 93 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 97;

(u) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 21 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 23;

(v) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 103; o

(w) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 105 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 107.

2. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 1, que comprende tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 101.

3. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 1 o 2, el cual es un anticuerpo internalizante.

4. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 2, que comprende:

(a) los residuos 24-34 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL1, los residuos 50-56 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL2, los residuos 89-97 de la SEQ ID NO: 99

para CDRL3, los residuos 31-35 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH1, los residuos 50-65 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH2 y los residuos 95-102 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH3, en donde los residuos de las CDR están numerados de acuerdo con Kabat;

(b) los residuos 24-34 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL1, los residuos 50-56 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL2, los residuos 89-97 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL3, los residuos 26-32 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH1, los residuos 52-56 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH2 and los residuos 95-102 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH3, en donde los residuos de las CDR están numerados de acuerdo con Chothia; o

(c) los residuos 30-36 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL1, los residuos 46-55 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL2, los residuos 89-96 de la SEQ ID NO: 99 para CDRL3, los residuos 30-35 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH1, los residuos 47-58 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH2 y los residuos 93-101 de la SEQ ID NO: 101 para CDRH3, en donde los residuos de las CDR están numerados de acuerdo con MacCallum.

5. El anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende:

(a) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 21 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 23; o

(b) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 25 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 27; o

(c) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 29 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 31; o

(d) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 33 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 35; o

(e) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 37 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 39; o

(f) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 41 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 43; o

(g) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 45 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 47; o

(h) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 49 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 51; o

(i) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 53 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 55; o

(j) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 57 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 59; o

(k) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 61 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 63; o

(l) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 65 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 67; o

(m) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 69 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 71; o

(n) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 73 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 75; o

(o) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 77 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 79; o

(p) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 81 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 83; o

(q) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 85 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 87; o

(r) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 89 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 91; o

(s) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 93 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 95; o

(t) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 93 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 97; o

(u) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 101; o

(v) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 103; o

(w) una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 105 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 107.

6. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 5, que comprende una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 101.

7. El anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo se selecciona entre el grupo que consiste en anticuerpo monoclonal, anticuerpo quimérico, anticuerpo con CDR injertada, anticuerpo humanizado, anticuerpo multiespecífico, anticuerpo biespecífico, anticuerpo monovalente, anticuerpo multivalente, fragmento Fab, fragmento F(ab')₂, fragmento Fv, fragmento scFv, o un fragmento inmunoreactivo de los mismos.

8. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 7, donde el anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en anticuerpo quimérico, anticuerpo con CDR injertada, y anticuerpo humanizado.

9. El anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, que comprende dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas, en donde cada una de las dos cadenas livianas comprende una secuencia definida como SEQ ID NO: 112 y cada una de las dos cadenas pesadas comprende una secuencia definida como SEQ ID NO: 113.

10. El anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el anticuerpo anti-MFI2 comprende dos cadenas livianas, dos cadenas pesadas, y dos residuos de cisteína desapareados.

11. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 10, en donde las dos cadenas livianas comprenden, cada una, un residuo de cisteína desapareado.

12. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 11, en donde las dos cadenas livianas comprenden, cada una, un residuo de cisteína desapareado en la posición C214.

13. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 10, en donde las dos cadenas pesadas comprenden, cada una, un residuo de cisteína desapareado.

14. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 13, en donde las dos cadenas pesadas comprenden, cada una, una IgG1 que comprende un residuo de cisteína desapareado en la posición C220.

15. El anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 10-14, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal IgG1 que comprende (i) un residuo de cisteína en la posición 220 de la cadena pesada y una delección o sustitución de un residuo de cisteína en la posición 214 de la cadena liviana o (ii) un residuo de cisteína en la posición 214 de la cadena liviana y una delección o sustitución de un residuo de cisteína en la posición 220 de la cadena pesada;

en donde el anticuerpo diseñado comprende residuos de cisteína nativos en las posiciones 226 y 229.

16. El anticuerpo anti-MFI2 de la reivindicación 10, en donde cada una de las dos cadenas livianas comprende una secuencia que se define como SEQ ID

NO: 112 y cada una de las dos cadenas pesadas comprende una secuencia que se define como SEQ ID NO: 114.

17. El anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde el anticuerpo anti-MFI2 está conjugado con un agente citotóxico.

18. Un ácido nucleico que codifica una región variable de cadena liviana y/o una región variable de cadena pesada del anticuerpo anti-MFI2 de cualquiera de las reivindicaciones 1-16.

19. Un vector o línea de célula huésped que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 18.

20. Un conjugado de droga y anticuerpo que comprende un anticuerpo anti-MFI2 conjugado, unido o asociado de otra manera con un agente citotóxico, en donde el anticuerpo comprende:

(a) tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 101;

(b) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 25 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 27;

(c) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 29 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 31;

(d) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 33 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 35;

(e) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 37 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 39;

(f) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 41 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 43;

(g) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 45 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 47;

(h) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 49 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 51;

(i) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 53 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 55;

(j) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 57 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 59;

(k) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 61 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 63;

(l) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 65 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 67;

(m) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 69 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 71;

(n) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 73 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 75;

(o) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 77 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 79;

(p) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 81 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 83;

(q) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 85 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 87;

(r) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 89 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 91;

(s) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 93 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 95;

(t) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 93 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 97;

(u) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 21 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 23;

(v) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 103; o

(w) tres CDR de una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 105 y tres CDR de una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 107.

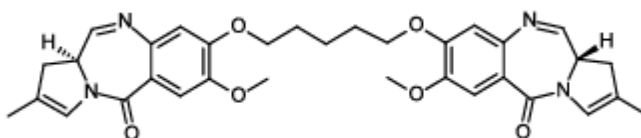
21. El conjugado de droga y anticuerpo de la reivindicación 20, en donde el conjugado de droga y anticuerpo tiene la fórmula $Ab-[L-D]_n$, en donde:

- (a) Ab es el anticuerpo anti-MFI2;
- (b) L comprende un conector opcional;
- (c) D es una droga, la cual es el agente citotóxico; y
- (d) n es un entero entre 1 y 8.

22. El anticuerpo de la reivindicación 17, o el conjugado de droga y anticuerpo de la reivindicación 20 o 21, en donde el agente citotóxico es una pirrolobenzodiazepina (PBD), una auristatina, un maitansinoide, una caliqueamicina, o un radioisótopo.

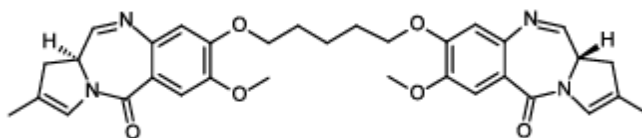
23. El anticuerpo de la reivindicación 17 o 22, o el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-22, en donde el agente citotóxico es una pirrolobenzodiazepina (PBD).

24. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 17 o 22-23, o el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-23, en donde el agente citotóxico es una pirrolobenzodiazepina (PBD) que tiene la siguiente estructura:

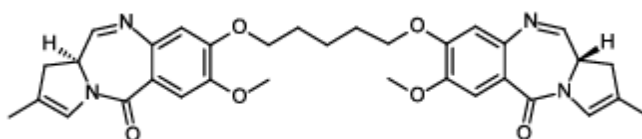


25. El conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-24, en donde el anticuerpo anti-MFI2 es el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 2-16.

26. El conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-25, en donde el anticuerpo anti-MFI2 comprende una región variable de cadena liviana definida como SEQ ID NO: 99 y una región variable de cadena pesada definida como SEQ ID NO: 101, y en donde el agente citotóxico es una pirrolobenzodiazepina (PBD) que tiene la siguiente estructura:



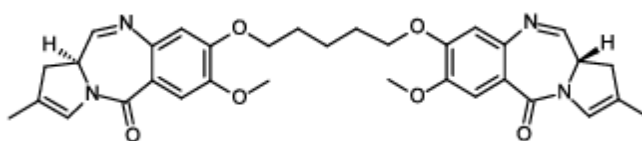
27. El conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-25, en donde el anticuerpo anti-MFI2 comprende dos cadenas livianas y dos cadenas pesadas, en donde cada una de las dos cadenas pesadas comprende una secuencia definida como SEQ ID NO: 112 y cada una de las dos cadenas pesadas comprende una secuencia definida como SEQ ID NO: 114, y en donde el agente citotóxico es una pirrolobenzodiazepina (PBD) que tiene la siguiente estructura:



28. El conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-27, en donde el conjugado de droga y anticuerpo tiene una carga de droga de 2.

29. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-28 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30. La composición farmacéutica de la reivindicación 29, en donde el agente citotóxico es una pirrolobenzodiazepina (PBD) que tiene la siguiente estructura:



31. La composición farmacéutica de la reivindicación 29 o 30, que comprende una proporción de la droga al anticuerpo (DAR) promedio de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 cada una ± 0.4 .

32. La composición farmacéutica de cualquiera de la reivindicación 29 - 31, que comprende una proporción de la droga al anticuerpo (DAR) de 2 ± 0.4 .

33. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 29-32, que comprende menos que 30% de especies ADC no predominantes.

34. Un kit que comprende uno o más contenedores que contienen el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-28 o una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 29-33.

35. El kit de la reivindicación 34, que además comprenden una etiqueta o un inserto de paquete asociado con el uno o más contenedores indicando que el conjugado de droga y anticuerpo o la composición farmacéutica es para tratar el cáncer.

36. El kit de cualquiera de la reivindicación 34 o 35, en donde el conjugado de droga y anticuerpo está en forma liofilizada.

37. Un método para hacer un conjugado de droga y anticuerpo, en donde el conjugado de droga y anticuerpo es el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-28, que comprende el paso de conjugar el anticuerpo anti-MFI2 al agente citotóxico.

38. El método de la reivindicación 37, en donde el anticuerpo anti-MFI2 comprende uno o más residuos de cisteína no apareados, y en donde el método comprende (a) reducir selectivamente los uno o más residuos de cisteína desapareados y (b) conjugar el anticuerpo anti-MFI2 selectivamente reducido al agente citotóxico por medio de los uno o más residuos de cisteína no apareados.

39. El método de la reivindicación 38, en donde el paso de reducir selectivamente el anticuerpo diseñado comprende poner en contacto al anticuerpo con un agente estabilizante.

40. El método de la reivindicación 39, en donde el agente estabilizante comprende al menos una unidad amina que tiene un pKa básico.

41. El método de la reivindicación 39 o 40, en donde el agente estabilizante comprende L-arginina o lisina.

42. El método de cualquiera de las reivindicaciones 38-41, que además comprende el paso de purificar el conjugado de droga y anticuerpo usando cromatografía preparativa.

43. Un método *in vitro* para entregar un agente citotóxico a una célula de cáncer que expresa MFI2, que comprende el paso de poner en contacto la célula con el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-28.

44. Un método *in vitro* para determinar la citotoxicidad de un conjugado de droga y anticuerpo anti-MFI2 que comprende los pasos de:

(a) poner en contacto una célula de cáncer con el conjugado de droga y anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 20-28; y

(b) determinar la muerte de la célula de cáncer.

45. El kit de la reivindicación 35 o 36, o el método de la reivindicación 43 o 44, en donde el cáncer es cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer colorectal o cáncer de piel.

46. El kit de la reivindicación 45, o el método de la reivindicación 45, en donde el cáncer de mama es cáncer de mama triple negativo, el cáncer de pulmón es adenocarcinoma de pulmón, o el cáncer de piel es melanoma metastásico y/o en donde el cáncer comprende un cáncer recurrente, reincidente o refractario.

47. El kit de la reivindicación 45, o el método de la reivindicación 45, en donde el cáncer de piel expresa BRAF de tipo silvestre o mutado.