

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un polipéptido que comprende al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a CD40L, en el que la unión a CD40L modula una actividad de CD40L.
- 10 2. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho ISVD que se une específicamente a CD40L consiste esencialmente en 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en las que
- 15 (i) CDR1 se elige del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 33, 61, 40 y 68; y secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos con las SEQ ID NOs: 33, 61, 40 o 68;
- (ii) CDR2 se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 35, 63, 42 y 70; y secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos con las SEQ ID NOs: 35, 63, 42 o 70; y
- 20 (iii) CDR3 se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 37, 65, 44 y 72; y secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 o 4 diferencias de aminoácidos con las SEQ ID NOs: 37, 65, 44 o 72.
3. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 2, en el que CDR1 se elige del grupo que consiste en
- 25 (a) SEQ ID NO: 61 y
- (b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos con la SEQ ID NO: 61, en donde
- 30 - en la posición 1, la G ha sido cambiada por E o R;
- en la posición 2, la R ha sido cambiada por H o G;
- en la posición 3, la T ha sido cambiada por I, A, S o P;
- en la posición 4, la P ha sido cambiada por S;
- 35 - en la posición 5, la L ha sido cambiada por P;
- en la posición 6, la N ha sido cambiada por S, D o I;
- en la posición 7, la Y ha sido cambiada por H;
- en la posición 8, la H ha sido cambiada por N;
- en la posición 9, la M ha sido cambiada por K, T o V; y/o
- en la posición 10, la A ha sido cambiada por G, S o T.
4. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que CDR2 se elige del grupo que consiste en
- 40 (a) SEQ ID NO: 63; y
- (b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos con la SEQ ID NO: 63, en donde
- 45 - en la posición 1, la A ha sido cambiada por G;
- en la posición 2, la I ha sido cambiada por V;
- en la posición 4, la S ha sido cambiada por N, R o G;
- en la posición 6, la L ha sido cambiada por I;
- en la posición 7, la G ha sido cambiada por S o D;
- en la posición 8, la S ha sido cambiada por G, I o F; y/o
- en la posición 9, la T ha sido cambiada por P o S.
- 50 5. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que CDR3 se elige del grupo que consiste en
- (a) SEQ ID NO: 65; y
- (b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 o 4 diferencias de aminoácidos con la SEQ ID NO: 65, en donde

- en la posición 1, la R ha sido cambiada por Q o L;
 - en la posición 2, la E ha sido cambiada por D o K;
 - en la posición 3, la T ha sido cambiada por S, M, A o K;
 - en la posición 4, la T ha sido cambiada por I, S, A o R;
 - 5 - en la posición 5, la H ha sido cambiada por Y o N;
 - en la posición 6, la Y ha sido cambiada por I, H o N;
 - en la posición 7, la S ha sido cambiada por T, G, N o I;
 - en la posición 8, la T ha sido cambiada por I o A;
 - en la posición 9, la S ha sido cambiada por N o R;
 - 10 - en la posición 10, la D ha sido cambiada por A;
 - en la posición 11, la R ha sido cambiada por S o G;
 - en la posición 13, la N ha sido cambiada por D, Y o S;
 - en la posición 14, la E ha sido cambiada por V, A, D o N;
 - en la posición 15, la M ha sido cambiada por I, V, K o T;
 - 15 - en la posición 16, la R ha sido cambiada por K, S, W, M, G o T;
 - en la posición 17, la H ha sido cambiada por N, L, Q, R o D;
 - en la posición 19, la D ha sido cambiada por N; y/o
 - en la posición 20, la Y ha sido cambiada por H, F o N.
- 20 6. El polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que
- CDR1 es la SEQ ID NO: 33, CDR2 es la SEQ ID NO: 35 y CDR3 es la SEQ ID NO: 37; o
 - CDR1 es la SEQ ID NO: 61, CDR2 es la SEQ ID NO: 63 y CDR3 es la SEQ ID NO: 65.
- 25 7. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que dicho ISVD es la SEQ ID NO: 8 o la SEQ ID NO: 6.
8. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 2, en el que CDR1 se elige del grupo que consiste en
- 30 (a) SEQ ID NO: 40; y
- (b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos con la SEQ ID NO: 40, en donde
- en la posición 3, la T ha sido cambiada por S, N, A o I;
 - en la posición 4, la L ha sido cambiada por Q, S, M o G;
 - en la posición 8, la A ha sido cambiada por N o V;
 - 35 - en la posición 9, la I ha sido cambiada por L o V; y/o
 - en la posición 10, la G ha sido cambiada por A.
9. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 2 u 8, en el que CDR2 se elige del grupo que consiste en
- 40 (a) SEQ ID NO: 42; y
- (b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos con la SEQ ID NO: 42, en donde
- en la posición 2, la I ha sido cambiada por V;
 - en la posición 3, la S ha sido cambiada por G;
 - 45 - en la posición 5, la E ha sido cambiada por G;
 - en la posición 6, la G ha sido cambiada por S;
 - en la posición 7, la S ha sido cambiada por G, N, T o I;
 - en la posición 8, la T ha sido cambiada por A, P, I o S; y/o
 - en la posición 9, la S ha sido cambiada por I, R o G.
- 50 10. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2, 8 y 9, en el que CDR3 se elige del grupo que consiste en
- (a) SEQ ID NO: 44; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 o 4 diferencias de aminoácidos con la SEQ ID NO: 44, en donde

- en la posición 4, la R ha sido cambiada por S;
- en la posición 7, la L ha sido cambiada por F, M o W;
- 5 - en la posición 8, la G ha sido cambiada por D, A o S;
- en la posición 9, la S ha sido cambiada por G, N o R;
- en la posición 10, la S ha sido cambiada por G, N, T o R;
- en la posición 12, la D ha sido cambiada por G, N, E o V;
- en la posición 13, la T ha sido cambiada por N o A;
- 10 - en la posición 14, la Q ha sido cambiada por H, K, L o R;
- en la posición 15, la S ha sido cambiada por P o T;
- en la posición 16, la H ha sido cambiada por N o Y;
- en la posición 17, la Q ha sido cambiada por L, R o H;
- en la posición 18, la Y ha sido cambiada por F;
- 15 - en la posición 19, la D ha sido cambiada por G; y/o
- en la posición 20, la Y ha sido cambiada por F o N.

11. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 y 8 a 10, en el que CDR1 es la SEQ ID NO: 40, CDR2 es la SEQ ID NO: 42 y CDR3 es la SEQ ID NO: 44.

12. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 y 8 a 11, en el que dicho ISVD es la SEQ ID NO: 7 o la SEQ ID NO: 3.

13. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicho polipéptido se une a CD40L con una KD entre $1E^{-07}$ M y $1E^{-13}$ M, tal como entre $1E^{-08}$ M y $1E^{-12}$ M, preferiblemente como máximo $1E^{-07}$ M, preferiblemente menor que $1E^{-08}$ M o $1E^{-09}$ M, o incluso menor que $1E^{-10}$ M, tal como $5E^{-11}$ M, $4E^{-11}$ M, $3E^{-11}$ M, $2E^{-11}$ M, $1.7E^{-11}$ M, $1E^{-11}$, o incluso $5E^{-12}$ M, $4E^{-12}$ M, $3E^{-12}$ M, $1E^{-12}$ M, por ejemplo como se determina por un KinExA.

14. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicho polipéptido se une a CD40L con una IC_{50} entre $1E^{-07}$ M y $1E^{-12}$ M, tal como entre $1E^{-08}$ M y $1E^{-11}$ M, por ejemplo, como la determinada por un ensayo de proliferación de células B o como se determina mediante un ensayo de señalización de células B.

15. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 14, en el que dicho polipéptido se une a CD40L con una IC_{50} de como máximo $1E^{-07}$ M, preferiblemente $1E^{-08}$ M, $1E^{-09}$ M, o $5E^{-10}$ M, $4E^{-10}$ M, $3E^{-10}$ M, $2E^{-10}$ M, tal como $1E^{-10}$ M.

16. El polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que dicho polipéptido se une a CD40L con una velocidad de disociación de menos de $5E^{-04}$ (s^{-1}), por ejemplo, como se determina por SPR.

17. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que dicha CD40L es preferentemente CD40L humana, preferentemente la SEQ ID NO: 1.

18. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho polipéptido antagoniza una actividad de CD40L.

19. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 18, donde dicho polipéptido bloquea la unión de CD40L a CD40 de al menos 20%, tal como al menos 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o incluso más, por ejemplo, como se determina por competencia de ligandos, el ensayo de activación de células B, AlphaScreen o los ensayos de unión competitiva, como el ELISA de competición o el FACS de competición.

20. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho polipéptido antagoniza la inducción mediada por CD40 de moléculas coestimuladoras de células T, tales como CD80 y CD86 y/o moléculas inmunoestimuladoras tales como IL12.
- 5 21. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho polipéptido inhibe la activación de las células B.
- 10 22. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho polipéptido no induce sustancialmente la fosforilación de JNK en células T Jurkat o no induce sustancialmente la secreción de IFN γ por células T Jurkat coestimuladas con anticuerpo anti-CD3.
- 15 23. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, en el que dicho polipéptido inhibe la activación de las células B, por ejemplo, como se determina mediante un ensayo de IgG para TT.
- 20 24. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23 que comprende además una albúmina de suero que se une a ISVD (ALB-Nanoanticuerpo).
- 25 25. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 24, donde dicha albúmina de suero de unión a ISVD consiste esencialmente en 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en las que CDR1 es la SEQ ID NO: 74, CDR2 es la SEQ ID NO: 75, CDR3 es la SEQ ID NO: 76.
- 30 26. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 25, en el que dicha albúmina de suero que se une a ISVD se elige del grupo que consiste en ALB135 (SEQ ID NO: 15), ALB129 (SEQ ID NO: 13), ALB8 (SEQ ID NO: 11), ALB23 (SEQ ID NO: 12) y ALB132 (SEQ ID NO: 14).
- 35 27. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 24 a 26, en el que dicho ISVD que se une específicamente a CD40L y dicha albúmina de suero que se une a ISVD están directamente unidos entre sí o están unidos a través de un enlazador.
- 40 28. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 27, en el que dicho enlazador se selecciona del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 18-29 y 77, preferiblemente la SEQ ID NO: 21.
- 45 29. El polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-28, que comprende además una extensión C-terminal.
- 50 30. El polipéptido de acuerdo con la reivindicación 29, en el que dicha extensión C-terminal es una extensión C-terminal (X) $_n$, en la que n es 1 a 10, preferiblemente 1 a 5, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 (y preferiblemente 1 o 2, tal como 1); y cada X es un residuo de aminoácido (preferiblemente de origen natural) que se elige independientemente, y preferiblemente se elige independientemente del grupo que consiste en alanina (A), glicina (G), valina (V), leucina (L) o isoleucina (I).
31. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, en el que dicho polipéptido comprende además una albúmina de suero que se une a ISVD de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 24 a 26, un enlazador de acuerdo con la reivindicación 28 y una extensión C-terminal de acuerdo con la reivindicación 29 o 30.

32. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 31, en el que dicho polipéptido tiene al menos 80%, 90%, 95% o 100% de identidad de secuencia con C010003318 (SEQ ID NO: 9) o C010003313 (SEQ ID NO: 78)
- 5 33. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 32, en el que dicho polipéptido no induce sustancialmente la activación de células endoteliales primarias.
34. El polipéptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 32, en el que dicho polipéptido no induce sustancialmente la activación plaquetaria o la agregación plaquetaria, por ejemplo, como se determina mediante un ensayo de activación plaquetaria o un ensayo de agregación plaquetaria.
- 10 35. Un método para tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos en un individuo, por ejemplo, en el que está implicada la activación inapropiada de una ruta mediada por CD40L/CD40, comprendiendo el método administrar el polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34 a dicho individuo en una cantidad efectiva para tratar o prevenir un síntoma de dicha enfermedad o trastorno.
- 15 36. Método de acuerdo con la reivindicación 35, en el que dichas enfermedades o trastornos se eligen del grupo que consiste en enfermedad autoinmune, lupus eritematoso sistémico (SLE), nefritis lúpica, púrpura trombocitopénica inmune (ITP), rechazo de trasplante, enfermedad de Crohn, síndrome de Sjögren, enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), colitis, asma/alergia, aterosclerosis, miastenia grave, esclerosis múltiple, psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, enfermedad coronaria, diabetes tipo 1, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y respuesta inmune a productos farmacológicos recombinantes, por ejemplo, el factor VII en la hemofilia.
- 20 37. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34 para uso como medicamento.
- 30 38. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34 para uso en el tratamiento o prevención de un síntoma de una enfermedad autoinmune, lupus eritematoso sistémico (SLE), nefritis lúpica, púrpura trombocitopénica inmune (ITP), rechazo de trasplante, enfermedad de Crohn, síndrome de Sjögren, enfermedad inflamatoria intestinal (IBD), colitis, asma/alergia, aterosclerosis, miastenia grave, esclerosis múltiple, psoriasis, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, enfermedad coronaria, diabetes tipo 1, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y/o respuesta inmune a productos farmacológicos recombinantes, por ejemplo, el factor VII en la hemofilia.
- 35 39. El polipéptido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, en el que dicho polipéptido bloquea en forma cruzada la unión a CD40L de al menos uno de los polipéptidos 46B03 (SEQ ID NO: 6), 28B02 (SEQ ID NO: 3), C010003290 (SEQ ID NO: 8) y C010003318 (SEQ ID NO: 9) y/o es bloqueado en forma cruzada para unirse a CD40L por al menos uno de los polipéptidos 46B03 (SEQ ID NO: 6), 28B02 (SEQ ID NO: 3), C010003290 (SEQ ID NO: 8) y C010003318 (SEQ ID NO: 9).
- 40 40. Un polipéptido que bloquea en forma cruzada la unión a CD40L por al menos uno de 46B03 (SEQ ID NO: 6), 28B02 (SEQ ID NO: 3), C010003290 (SEQ ID NO: 8) y C010003318 (SEQ ID NO: 9) y/o es bloqueado en forma cruzada para unirse a CD40L mediante al menos uno de 46B03 (SEQ ID NO: 6), 28B02 (SEQ ID NO: 3), C010003290 (SEQ ID NO: 8) y C010003318 (SEQ ID NO: 9), donde dicho polipéptido comprende al menos un VH, VL, dAb, dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a CD40L, en donde la unión a CD40L modula una actividad de CD40L.
- 50