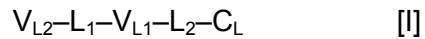
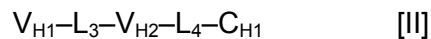


## **REIVINDICACIONES**

1. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

$V_{L1}$  es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L2}$  es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L3}$  es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{H1}$  es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H2}$  es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H3}$  es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$C_L$  es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

$C_{H1}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H1}$  de inmunoglobulina; y

$L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

2. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias proteínas diana,

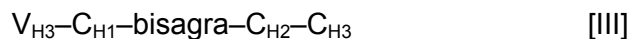
en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

$V_{L1}$  es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L2}$  es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L3}$  es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{H1}$  es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H2}$  es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H3}$  es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$C_L$  es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

$C_{H1}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H1}$  de inmunoglobulina;

$C_{H2}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H2}$  de inmunoglobulina;

$C_{H3}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H3}$  de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios  $C_{H1}$  y  $C_{H2}$ ; y

$L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

3. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la segunda y/o tercera cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con  $C_{H1}$ , en donde la

región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>.

4. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde al menos uno de L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> o L<sub>4</sub> tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

5. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> o L<sub>4</sub> tienen cada uno, de modo independiente, al menos un aminoácido de largo.

6. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde (a) L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> y L<sub>4</sub> tienen cada uno, de modo independiente, una longitud de o aminoácidos o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148) o (b) L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> y L<sub>4</sub> comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148).

7 La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde

(a) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L<sub>2</sub> comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106), L<sub>3</sub> comprende la secuencia S y L<sub>4</sub> comprende la secuencia RT;

(b) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L<sub>2</sub> comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L<sub>3</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud y L<sub>4</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud;

(c) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L<sub>2</sub> comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L<sub>3</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud y L<sub>4</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud; o

(d) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), L<sub>2</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud, L<sub>3</sub> comprende la secuencia GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y L<sub>4</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud.

8. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la proteína de unión es trispecífica y capaz de unir específicamente tres diferentes dianas de antígenos.

9. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–8, en donde la proteína de unión se une específicamente tres proteínas diana que corresponden a dos proteínas diana en células T y a una proteína diana tumoral.

10. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 9, en donde una de dichas proteínas diana en células T es CD3.

11. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en donde una de dichas proteínas diana en células T es CD28.

12. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9–11, en donde dicha proteína diana tumorales CD38.

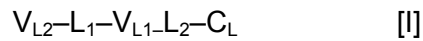
13. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–8, en donde la proteína de unión se une específicamente tres proteínas diana que corresponden a dos proteínas diana en células T y a una proteína diana seleccionada del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFN $\alpha$ , IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1,

IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa-1, OX40, OX40L, PD-1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

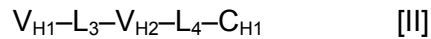
14. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana.

15. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 14, en donde las una o varias proteínas diana se seleccionan del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7-4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF-1, CSF-2, CSF-3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR-1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM-CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFN $\alpha$ , IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa-1, OX40, OX40L, PD-1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, SREAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

16. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

$V_{L1}$  es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L2}$  es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L3}$  es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{H1}$  es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H2}$  es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H3}$  es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$C_L$  es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

$C_{H1}$  es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina  $CH1$ ; y

$L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; o

(b)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149; y

en donde:

(a)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166; o

(b)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122, y 126–128.

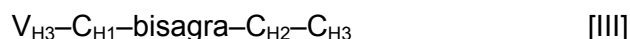
17. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

$V_{L1}$  es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L2}$  es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L3}$  es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{H1}$  es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H2}$  es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H3}$  es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$C_L$  es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

$C_{H1}$  es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina  $CH1$ ;

$C_{H2}$  es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina  $CH2$ ;

$C_{H3}$  es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina  $CH3$ ;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios  $CH1$  y

$CH2$ ; y

$L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; o

(b)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149; y

en donde:

(a)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166; o

(b)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 25–42, 120–122 y 126–128.

18. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con C<sub>H1</sub>, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>.

19. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en donde al menos uno de L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> o L<sub>4</sub>, tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

20. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en donde L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> o L<sub>4</sub> tienen cada uno, de modo independiente, al menos un aminoácido de largo.

21. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en donde (a) L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> y L<sub>4</sub> tienen cada uno, de modo independiente, una longitud de 0 aminoácidos o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148) o (b) L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> y L<sub>4</sub> comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148).

22. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en donde:

(a) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L<sub>2</sub> comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106), L<sub>3</sub> comprende la secuencia S y L<sub>4</sub> comprende la secuencia RT;

(b) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L<sub>2</sub> comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L<sub>3</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud y L<sub>4</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud;

(c) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GSGSGSGSGG (SEQ ID NO: 148), L<sub>2</sub> comprende la secuencia GSGSGSGSGG (SEQ ID NO: 148), L<sub>3</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud y L<sub>4</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud; o

(d) L<sub>1</sub> comprende la secuencia GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), L<sub>2</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud, L<sub>3</sub> comprende la secuencia GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y L<sub>4</sub> tiene 0 aminoácidos de longitud.

23. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 16 o la reivindicación 17, en donde:

(a) V<sub>H1</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V<sub>L1</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V<sub>H2</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V<sub>L2</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V<sub>H3</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V<sub>L3</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45;

(b)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45;

(c)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57;

(d)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57;

(e)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59;

(f)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59;

(g)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;

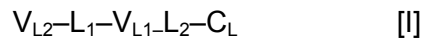
(h)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;

(i)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1

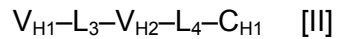
que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; o

(j)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125.

24. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

$V_{L1}$  es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L2}$  es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L3}$  es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{H1}$  es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H2}$  es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H3}$  es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$C_L$  es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

$C_{H1}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H1}$  de inmunoglobulina; y

$L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173; o

(b)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141–147, 178 y 179; y en donde:

(a)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172; o

(b)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137.

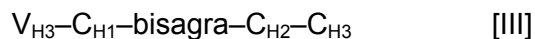
25. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

$V_{L1}$  es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L2}$  es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{L3}$  es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

$V_{H1}$  es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H2}$  es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$V_{H3}$  es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

$C_L$  es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

$C_{H1}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H1}$  de inmunoglobulina;

$C_{H2}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H2}$  de inmunoglobulina;

$C_{H3}$  es un dominio constante de cadena pesada  $C_{H3}$  de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios  $C_{H1}$  y  $C_{H2}$ ; y

$L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173; o

(b)  $V_{L1}$ ,  $V_{L2}$  y  $V_{L3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141–147, 178 y 179; y

en donde:

(a)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172; o

(b)  $V_{H1}$ ,  $V_{H2}$  y  $V_{H3}$  comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137.

26. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 24, en donde la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con  $C_{H1}$ , en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ .

27. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 24 o la reivindicación 25, en donde al menos uno de  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$ , tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

28. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 24 o la reivindicación 25, en donde  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  tienen cada uno, de modo independiente, al menos un aminoácido de largo.

29. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 24 o la reivindicación 25, en donde  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  tienen cada uno, de modo independiente, una longitud de 0 aminoácidos o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148) o (b)  $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  y  $L_4$  comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148)..

30. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 24 o la reivindicación 25, en donde:

(a)  $L_1$  comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175),  $L_2$  comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106),  $L_3$  comprende la secuencia S y  $L_4$  comprende la secuencia RT;

(b)  $L_1$  comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104),  $L_2$  comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104),  $L_3$  tiene 0 aminoácidos de longitud y  $L_4$  tiene 0 aminoácidos de longitud;

(c)  $L_1$  comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148),  $L_2$  comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148),  $L_3$  tiene 0 aminoácidos de longitud y  $L_4$  tiene 0 aminoácidos de longitud; o

(d)  $L_1$  comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105),  $L_2$  tiene 0 aminoácidos de longitud,  $L_3$  comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y  $L_4$  tiene 0 aminoácidos de longitud.

31. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 24 o la reivindicación 25, en donde:

(a)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142;

(b)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-

H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V<sub>L2</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V<sub>H3</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V<sub>L3</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142;

(c) V<sub>H1</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V<sub>L1</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V<sub>H2</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V<sub>L2</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V<sub>H3</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V<sub>L3</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:146; y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(d)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(e)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR-

H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V<sub>L2</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V<sub>H3</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V<sub>L3</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

(f) V<sub>H1</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V<sub>L1</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V<sub>H2</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V<sub>L2</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V<sub>H3</sub> comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V<sub>L3</sub> comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

(g)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(h)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-

H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

(i)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; o

(j)  $V_{H1}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134;  $V_{L1}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;  $V_{H2}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137;  $V_{L2}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;  $V_{H3}$  comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y  $V_{L3}$  comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

32. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16, y 24, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ , en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde la

tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ , en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V.

33. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16 y 24, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ , en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ , en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W.

34. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16, 24, 32, y 33, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$  y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ ; en donde la primera y la segunda región Fc comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones

correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S.

35. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17 y 25, en donde el dominio  $C_{H3}$  de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde el dominio  $C_{H3}$  de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V.

36. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17 y 25, en donde el dominio  $C_{H3}$  de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde el dominio  $C_{H3}$  de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W.

37. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25, 35, y 36, en donde los dominios  $C_{H3}$  de la segunda y la tercera cadena polipeptídica comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S.

38. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16, 24 y 32–34, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ ;

en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C<sub>H1</sub>, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 o IgG4 humana; y en donde sólo una de la primera y la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F.

39. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25 y 35–37, en donde los dominios C<sub>H3</sub> de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C<sub>H3</sub> de IgG1 o IgG4 humana y en donde sólo uno de los dominios C<sub>H3</sub> comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F.

40. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16, 24, 32–34 y 38, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C<sub>H1</sub>, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C<sub>H1</sub>, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K.

41. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25, 35–37 y 39, en donde los dominios C<sub>H3</sub> de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C<sub>H3</sub> de IgG4 humana y en donde los dominios C<sub>H3</sub> comprenden cada uno

sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K.

42. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16, 24, 32–34, 38 y 40, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ ; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con  $C_{H1}$ , donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $C_{H2}$  y  $C_{H3}$ ; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A.

43. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25, 35–37, 39 y 41, en donde los dominios  $C_{H3}$  de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios  $C_{H3}$  de IgG4 humana y en donde los dominios  $C_{H3}$  comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A.

44. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 16, 24, 32–34, 38 y 40, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con  $C_{H1}$ , donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $CH2$  y  $CH3$ ; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con  $C_{H1}$ , en donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina  $CH2$  y  $CH3$ ;

en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A.

45. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25, 35 y 37, 39 y 41, en donde los dominios CH3 de la segunda y tercera cadena polipeptídica son dominios C<sub>H3</sub> de IgG1 humana y en donde los dominios CH3 comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A.

46. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 35–37, 39, 41, 43, y 45, en donde VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana, en donde VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana y en donde VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano.

47. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 35–37, 39, 41, 43 y 45, en donde VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana, en donde VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana y en donde VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano.

48. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 46 o la reivindicación 47, en donde el tercer sitio de unión a antígeno se une específicamente con una proteína diana tumoral humano seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1.

49. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46–48, en donde el sitio de unión con antígeno que se une específicamente a CD3 comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; o

(b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155.

50. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46–49, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161; o

(b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 163.

51. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46–50, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157;

(b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159;

(c) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 165;

(d) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151; o

(e) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 167.

52. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 35–37, 39, 41, 43 y 45, en donde:

(a) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana;

(b) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana;

(c) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana;

(d) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano;

(e) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano; o

(f) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana.

53. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 52, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 169.

54. La proteína de unión de acuerdo con la reivindicación 52 o la reivindicación 53, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 170 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 171.

55. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 52–54, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 172 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 173.

56. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–55, en donde:

(a) el dominio CL de la primera cadena polipeptídica es un dominio CL kappa humano y el dominio CL de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio CL lambda humano; o

(b) el dominio CL de la primera cadena polipeptídica es un dominio CL lambda humano y el dominio CL de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio CL kappa humano.

57. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25, 35–37, 39, 41 y 43–55, en donde la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio C<sub>H3</sub> de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio C<sub>H3</sub> de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa.

58. Una proteína de unión que comprende una primera cadena polipeptídica, una segunda cadena polipeptídica, una tercera cadena polipeptídica y una cuarta cadena polipeptídica en donde:

(a) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

(b) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

(c) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14;

(d) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena

polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14;

(e) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(f) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(g) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(h) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(i) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61;

(j) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61;

(k) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71;

(l) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; la tercera cadena

polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(m) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(n) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(o) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(p) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(q) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ

ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(r) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(s) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(t) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena

polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115; o

(u) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115.

59. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–58.

60. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 59.

61. Una célula huésped aislada que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 59.

62. Una célula huésped aislada que comprende el vector de expresión de acuerdo con la reivindicación 60.

63. La célula huésped aislada de acuerdo con la reivindicación 61 o la reivindicación 62, en donde la célula huésped es una célula de mamífero o una célula de insecto.

64. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–58 y un portador farmacéuticamente aceptable.

65. Un método de prevención y/o tratamiento de cáncer en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–23 y 32–58 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 64.

66. El método de acuerdo con la reivindicación 65, en donde la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral.

67. El método de acuerdo con la reivindicación 66, en donde la proteína de unión comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1.

68. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 65–67, en donde la al menos una proteína de unión se coadministra con un agente quimioterapéutico.

69. A método de prevención y/o tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15, 24–45 y 52–58 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 64.

70. El método de acuerdo con la reivindicación 69, en donde la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno que se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa.

71. El método de acuerdo con la reivindicación 69 o la reivindicación 70, en donde la al menos una proteína de unión se coadministra con un agente antiinflamatorio.

72. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 65–71, en donde es paciente es un humano.

73. El método de acuerdo con la reivindicación 65 o la reivindicación 69, en donde la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana seleccionadas del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFN $\alpha$ , IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

74. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–23 y 32–58 o la composición de acuerdo con la reivindicación 64 para usar en la prevención y/o el tratamiento de cáncer en un paciente.

75. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con la reivindicación 74, en donde la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral.

76. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con la reivindicación 75, en donde la proteína de unión comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1.

77. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 74–76, en donde la proteína de unión se coadministra con un agente quimioterapéutico.

78. La proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–15, 24–45 y 52–58 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 64 para usar la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente.

79. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con la reivindicación 78, en donde la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno que se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa.

80. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con la reivindicación 78 o la reivindicación 79, en donde la proteína de unión se coadministra con un agente antiinflamatorio.

81. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 74–80, en donde el paciente es un humano.

82. La proteína de unión para usar o la composición para usar de acuerdo con la reivindicación 74 o la reivindicación 78, en donde la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana seleccionadas del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3,

CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF-1, CSF-2, CSF-3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR-1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM-CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFN $\alpha$ , IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa-1, OX40, OX40L, PD-1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, MMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

83. Un método de purificación de una proteína de unión producida por una célula huésped, que comprende:

(a) producir la proteína de unión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2, 17, 25, 35-37, 41, 43, 45, y 46-55 en una célula huésped, en donde sólo uno del dominio C<sub>H3</sub> de la segunda cadena polipeptídica y el dominio C<sub>H3</sub> de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F;

(b) poner en contacto la proteína de unión producida en (a) con la proteína A; y

(c) eluir la proteína de unión de la proteína A en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden ya sea 0 ó 2 dominios C<sub>H3</sub> que comprenden las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F.

84. El método de la reivindicación 83, en el que el dominio C<sub>L</sub> de la primera cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> kappa humano, y el dominio C<sub>L</sub> de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> lambda humano; o el dominio C<sub>L</sub> de la primera cadena

polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> lambda humano, y el dominio C<sub>L</sub> de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> kappa humano, y el método comprende además:

(d) poner en contacto la proteína de unión eluida en (c) con un medio de afinidad de cadena ligera kappa; y

(e) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera kappa en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios C<sub>L</sub> lambda.

85. El método de acuerdo con la reivindicación 84, que también comprende, después de (e):

(f) poner en contacto la proteína de unión eluida en (e) con un medio de afinidad de cadena ligera lambda; y

(g) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera lambda en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios C<sub>L</sub> kappa.

86. El método de la reivindicación 83, en donde el dominio C<sub>L</sub> de la primera cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> kappa humano, y el dominio C<sub>L</sub> de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> lambda humano; o el dominio C<sub>L</sub> de la primera cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> lambda humano, y el dominio C<sub>L</sub> de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C<sub>L</sub> kappa humano, y el método comprende además:

(d) poner en contacto la proteína eluida en (c) con un medio de afinidad por cadena ligera lambda; y

(e) eluir la proteína de unión del medio de afinidad por cadena ligera lambda en condiciones adecuadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden solo dominios C<sub>L</sub> kappa.

87. El método de la reivindicación 86, que comprende además, después de (e):

(f) poner en contacto la proteína de unión eluida en (e) con un medio de afinidad por cadena ligera kappa; y

(g) eluir la proteína de unión del medio de afinidad por cadena ligera kappa en condiciones adecuadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden solo dominios C<sub>L</sub> lambda.

88. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 83-87, en donde la primera cadena polipeptídica comprende un dominio C<sub>L</sub> kappa; en donde el dominio C<sub>H3</sub> de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio C<sub>H3</sub> de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio C<sub>L</sub> kappa.

89. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 83-88, en donde la proteína de unión se detecta en uno o más de (c) y (e) usando cromatografía por interacción hidrofóbica (HIC).

90. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-89, en donde los dominios C<sub>H3</sub> de las segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios C<sub>H3</sub> de IgG1 o IgG4 humana.