

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de unión a antígeno biespecífica, que comprende
 - (a) al menos un dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 y
 - (b) al menos un dominio de unión a antígeno capaz de unirse específicamente a un antígeno de célula diana.
2. La molécula de unión a antígeno biespecífica de la reivindicación 1, que además comprende
 - (c) una región Fc compuesta de una primera y una segunda subunidad capaces de asociarse de manera estable.
3. La molécula de unión a antígeno biespecífica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 se une a un polipéptido que comprende o que consiste en, la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.
4. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a un antígeno de célula diana es un dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a la proteína de activación de fibroblastos (FAP).
5. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a FAP comprende
 - (a) una región variable de cadena pesada (V_H FAP) que comprende (i) la CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, (ii) la CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 y (iii) la CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5 y una región variable de cadena ligera (V_L FAP) que comprende (iv) la CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6, (v) la CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7 y (vi) la CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8 o

- (b) una región variable de cadena pesada (V_H FAP) que comprende (i) la CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11, (ii) la CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12 y (iii) la CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una región variable de cadena ligera (V_L FAP) que comprende (iv) la CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14, (v) la CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y (vi) la CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16.
6. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a FAP comprende
- (a) una región variable de cadena pesada (V_H FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de cadena ligera (V_L FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o
 - (b) una región variable de cadena pesada (V_L FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera (V_L FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.
7. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse a CD40 comprende una región variable de cadena pesada (V_H CD40) que comprende (i) la CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, (ii) la CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20 y (iii) la CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21 y una región variable de cadena ligera (V_L CD40) que comprende (iv) la CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22, (v) la CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de

la SEQ ID NO: 23 y (vi) la CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24.

8. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse a CD40 comprende una región variable de cadena pesada (V_H CD40) que comprende (i) la CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27, (ii) la CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 y (iii) la CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29 y una región variable de cadena ligera (V_L CD40) que comprende (iv) la CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30, (v) la CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31 y (vi) la CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32.
9. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 comprende
 - (a) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26 o
 - (b) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34.
10. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 comprende
 - (i) una región variable de cadena pesada (V_H CD40) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173 y SEQ ID NO: 174 y
 - (ii) una región variable de cadena pesada (V_L CD40) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177 y SEQ ID NO: 178.
11. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse

de manera específica a CD40 comprende

- (i) una región variable de cadena pesada (V_H CD40) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183 y SEQ ID NO: 184 y
- (ii) una región variable de cadena pesada (V_L CD40) que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en la SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 187 y SEQ ID NO: 188.

12. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o 10, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 comprende

- (a) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175 o
- (b) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 173 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177 o
- (c) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 174 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 178 o
- (d) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177 o
- (e) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 178 o
- (f) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 173 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175 o
- (g) una V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 173 y una V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 178 o

- (h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 174 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175 o
 - (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 174 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177 o
 - (j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176 o
 - (k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 172 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175 o
 - (l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 172 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176 o
 - (m) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 172 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177 o
 - (n) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 172 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 178 o
 - (o) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 173 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176 o
 - (p) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 174 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176.
- 13.** La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o 10 o 12, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse específicamente a CD40 comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175.

- 14.** La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o 11, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 comprende
- (a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 179 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185 o
 - (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 180 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185 o
 - (c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 181 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185 o
 - (d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185 o
 - (e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 179 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 186 o
 - (f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 180 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 186 o
 - (g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 181 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 186 o
 - (h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 186 o
 - (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 187 o
 - (j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 183 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO: 188 o

- (k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 187 o
- (l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 188.

15. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o 11 o 14, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40 comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 179 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185 o en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse específicamente a CD40 comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 182 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185.

16. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende

- (i) al menos un dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a CD40, que comprende una región variable de cadena pesada (V_H CD40) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 171, SEQ ID NO: 172, SEQ ID NO: 173, SEQ ID NO: 174, SEQ ID NO: 179, SEQ ID NO: 180, SEQ ID NO: 181, SEQ ID NO: 182, SEQ ID NO: 183 y SEQ ID NO: 184 y una región variable de cadena ligera (V_L CD40) que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 175, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, SEQ ID NO: 178, SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 186, SEQ ID NO: 187 y SEQ ID NO: 188 y
- (ii) al menos un dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a FAP, que comprende una región variable de cadena pesada (V_H FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9 y una región variable de cadena ligera (V_L FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, o una región variable de cadena pesada (V_H FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y una región variable de cadena ligera (V_L FAP) que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18.

17. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 16, en donde la región Fc es una región Fc de IgG, en particular, una región Fc de IgG1 o de IgG4 y en donde la región Fc comprende una o más sustituciones de aminoácidos que reducen la afinidad de unión del anticuerpo a un receptor de Fc y/o la función efectora.
18. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 17, en donde la región Fc es (i) de subclase IgG1 humana con las mutaciones L234A, L235A y P329G (numeración según el índice de EU de Kabat) o (ii) de subclase IgG1 de ratón con las mutaciones de aminoácidos D265A y P329G (numeración según el índice de EU de Kabat).
19. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde la molécula de unión a antígeno biespecífica comprende
 - (a) al menos dos fragmentos Fab capaces de unirse de manera específica a CD40 conectados a una región Fc y
 - (b) un dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a FAP conectado al extremo C-terminal de la región Fc.
20. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde la molécula de unión a antígeno biespecífica comprende
 - (a) al menos dos fragmentos Fab capaces de unirse de manera específica a CD40 conectados a una región Fc y
 - (b) un fragmento cross-Fab capaz de unirse de manera específica a FAP conectado al extremo C-terminal de la región Fc.
21. La molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde la molécula de unión a antígeno biespecífica comprende cuatro fragmentos Fab capaces de unirse específicamente a CD40.
22. Un polinucleótido que codifica la molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21.
23. Un vector de expresión que comprende el polinucleótido de la reivindicación 22.

- 24.** Una célula hospedadora que comprende el polinucleótido de la reivindicación 22 o el vector de expresión de la reivindicación 23.
- 25.** Un método para producir una molécula de unión a antígeno biespecífica, que comprende cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 24 en condiciones adecuadas para la expresión de la molécula de unión a antígeno biespecífica y aislar la molécula de unión a antígeno biespecífica.
- 26.** Una composición farmacéutica que comprende la molécula de unión a antígeno biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.