

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Proteína triespecífica de unión al agente de maduración de células AB (BCMA) que comprende:

(a) un primer dominio (A) que se une específicamente al CD3 humano;

(b) un segundo dominio (B) que es un dominio de prolongación de la semivida; y

(c) un tercer dominio (C) que se une específicamente a BCMA,

en donde los dominios están unidos en el orden $H_2N-(A)-(C)-(B)-COOH$, $H_2N-(B)-(A)-(C)-COOH$, $H_2N-(C)-(B)-(A)-COOH$, $H_2N-(C)-(A)-(B)-COOH$, $H_2N-(A)-(B)-(C)-COOH$, o $H_2N-(B)-(C)-(A)-COOH$, en donde los dominios están unidos por los enlazadores L1 y L2.

2. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 1, en donde el primer dominio comprende un dominio variable ligero y un dominio variable pesado, cada uno de los cuales es capaz de unirse específicamente a CD3 humano.

3. La proteína de unión a BCMA de la reivindicación 1, en donde que el primer dominio es humanizado o humano.

4. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 1, en donde el segundo dominio se une a la albúmina.

5. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 1, en donde el segundo dominio comprende un scFv, un dominio variable pesado (VH), un dominio variable ligero (VL), un dominio VHH, un péptido, un ligando o una molécula pequeña.

6. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 1, en donde el tercer dominio comprende un dominio VHH, un scFv, un dominio VH, un dominio VL, un dominio

distinto a Ig, un ligando, un *knottin* (nudo de cisteínas) o una entidad de molécula pequeña que específicamente se une a BCMA.

7. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 6, en donde el tercer dominio comprende un dominio VHH.
8. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 7, en donde dicho dominio VHH comprende regiones determinantes de la complementariedad CDR1, CDR2 y CDR3, en donde

(a) la secuencia de aminoácidos de CDR1 es como se establece en $X_1X_2X_3X_4X_5X_6X_7PX_8G$ (SEQ ID NO: 1), en donde X_1 es T o S; X_2 es N, D, o S; X_3 es I, D, Q, H, V, o E; X_4 es F, S, E, A, T, M, V, I, D, Q, P, R, o G; X_5 es S, M, R, o N; X_6 es I, K, S, T, R, E, D, N, V, H, L, A, Q, o G; X_7 es S, T, Y, R, o N; y X_8 es M, G, o Y;

(b) la secuencia de aminoácidos de CDR2 es como se establece en $AIX_9GX_{10}X_{11}TX_{12}YADSVK$ (SEQ ID NO: 2), en donde X_9 es H, N, o S; X_{10} es F, G, K, R, P, D, Q, H, E, N, T, S, A, I, L, o V; X_{11} es S, Q, E, T, K, o D; y X_{12} es L, V, I, F, Y, o W; y

(c) la secuencia de aminoácidos de CDR3 es como se establece en $VPWGX_{13}YHPX_{14}X_{15}VX_{16}$ (SEQ ID NO: 3), en donde X_{13} es D, I, T, K, R, A, E, S, o Y; X_{14} es R, G, L, K, T, Q, S, o N; X_{15} es N, K, E, V, R, M, o D; y X_{16} es Y, A, V, K, H, L, M, T, R, Q, C, S, o N; y en donde CDR1 no es la SEQ ID NO: 599, en donde CDR2 no es la SEQ ID NO: 600, y en donde CDR3 no es la SEQ ID NO: 601.

9. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 8, en donde el dominio VHH comprende la siguiente fórmula:

$$f1-r1-f2-r2-f3-r3-f4$$

en donde, r1 es SEQ ID NO: 1; r2 es SEQ ID NO: 2; y r3 es SEQ ID NO: 3; y en donde f1, f2, f3 y f4 son residuos del marco seleccionados de modo que dicha proteína es entre

alrededor del ochenta por ciento (80%) ya alrededor del 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 346 o 598.

10. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 4-117.

11. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r2 comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 118-231.

12. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r3 comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 232-345.

13. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde el dominio VHH comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 346-460.

14. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde F1 comprende la SEQ ID NO: 461 o 462.

15. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde F2 comprende la SEQ ID NO: 463.

16. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde F3 comprende la SEQ ID NO: 464 o 465.

17. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde F4 comprende la SEQ ID NO: 466 o 467.

18. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende la SEQ ID NO: 76, 114, 115, 116 o 117.

19. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende la SEQ ID NO: 76, r2 es la SEQ ID NO: 190 y r3 es la SEQ ID NO: 304.
20. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende la SEQ ID NO: 114, r2 comprende la SEQ ID NO: 228 y r3 comprende la SEQ ID NO: 342.
21. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende la SEQ ID NO: 115, r2 comprende la SEQ ID NO: 229 y r3 comprende la SEQ ID NO: 343.
22. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende la SEQ ID NO: 117, r2 comprende la SEQ ID NO: 231 y r3 comprende la SEQ ID NO: 345.
23. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 9, en donde r1 comprende la SEQ ID NO: 116, r2 comprende la SEQ ID NO: 230 y r3 comprende la SEQ ID NO: 344.
24. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde el tercer dominio es un dominio VHH humano, un dominio VHH humanizado, un dominio VHH madurado por afinidad o una combinación de los mismos.
25. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en donde dicha proteína tiene un semitiempo de eliminación de al menos 12 horas, al menos 20 horas, al menos 25 horas, al menos 30 horas, al menos 35 horas, al menos 40 horas, al menos 45 horas, al menos 50 horas o al menos 100 horas.
26. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 7, en donde el dominio VHH comprende una CDR1, una CDR2 y una CDR3, y en donde la proteína comprende una secuencia establecida como SEQ ID NO: 598 o 346, en donde uno o más residuos de aminoácidos seleccionados de las posiciones de aminoácidos 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 34 de CDR1; posiciones 52, 54, 55 y 57 de CDR2; y las posiciones 101, 105, 106 y 108 de CDR3 están sustituidos, en donde

la posición de aminoácido 26, si está sustituida, está sustituida con S;

la posición de aminoácido 27, si está sustituida, está sustituida con D o S;

la posición de aminoácido 28, si está sustituida, está sustituida con D, Q, H, V o E;

la posición de aminoácido 29, si está sustituida, está sustituida con S, E, A, T, M, T, V, I, D, Q, D, P, R o G;

la posición de aminoácido 30, si está sustituida, está sustituida con M, R o N;

la posición de aminoácido 31, si está sustituida, está sustituida con K, S, T, R, E, D, N, V, H, L, A, Q o G;

la posición de aminoácido 32, si está sustituida, está sustituida con T, Y, R o N;

la posición de aminoácido 34, si está sustituida, está sustituida con G o Y;

la posición de aminoácido 52, si está sustituida, está sustituida con N o S;

la posición de aminoácido 54, si está sustituida, está sustituida con G, K, R, P, D, Q, H, E, N, T, S, A, I, L o V;

la posición de aminoácido 55, si está sustituida, está sustituida con Q, E, T, K o D;

la posición de aminoácido 57, si está sustituida, está sustituida con V, I, F, Y o W;

la posición de aminoácido 101, si está sustituida, está sustituida con I, T, K, R, A, E, S o Y;

la posición de aminoácido 105, si está sustituida, está sustituida con G, L, K, T, Q, S o N;

la posición de aminoácido 106, si está sustituida, está sustituida con K, E, V, R, M o D;

la posición de aminoácido 108, si está sustituida, está sustituida con A, V, K, H, L, M, T, R, Q, C, S o N.

27. La proteína triespecífica de unión a BCMA de la reivindicación 26, en donde el dominio VHH es humano, humanizado, madurado por afinidad o una combinación de los mismos.
28. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en donde el tercer dominio se une a una proteína BCMA humana que comprende la secuencia establecida como SEQ ID NO: 468.
29. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en donde el tercer dominio se une a un dominio extracelular de BCMA.
30. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde los enlazadores L1 y L2 se seleccionan cada uno independientemente de (GS)_n (SEQ ID NO: 472), (GGS)_n (SEQ ID NO: 473), (GGGS)_n (SEQ ID NO: 474), (GGSG)_n (SEQ ID NO: 475), (GGSGG)_n (SEQ ID NO: 476), (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 477), (GGGGG)_n (SEQ ID NO: 478) o (GGG)_n (SEQ ID NO: 479) en donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.
31. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde los enlazadores L1 y L2 son cada uno independientemente (GGGGS)₄ (SEQ ID NO: 480) o (GGGGS)₃ (SEQ ID NO: 481).
32. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-31, en donde los dominios están unidos en el orden H₂N-(C)-(B)-(A)-COOH.
33. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en donde la proteína es inferior a alrededor de 80 kDa.
34. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en donde la proteína es de alrededor de 50 a alrededor de 75 kDa.
35. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en donde la proteína es inferior a alrededor de 60 kDa.

36. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-35, en donde la proteína tiene un semitiempo de eliminación de al menos alrededor de 50 horas.
37. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-36, en donde la proteína tiene un semitiempo de eliminación de al menos alrededor de 100 horas.
38. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-37, en donde la proteína tiene una penetración tisular aumentada en comparación con una IgG para el mismo BCMA.
39. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-38, en donde la proteína comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 483-597.
40. La proteína triespecífica de unión a BCMA de cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en donde la proteína comprende una secuencia como se establece en la SEQ ID NO: 520.
41. Una composición farmacéutica que comprende una proteína triespecífica de unión a BCMA de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-40 y un portador farmacéuticamente aceptable.
42. Un proceso para la producción de una proteína triespecífica de unión a BCMA de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-40, dicho proceso comprende cultivar un hospedero transformado o transfectado con un vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína triespecífica de unión a BCMA de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-40 en condiciones que permiten la expresión de la proteína triespecífica de unión a BCMA y la recuperación y purificación de la proteína producida desde el cultivo.
43. Un método para el tratamiento o mejora de una enfermedad tumoral, una enfermedad autoinmune o una enfermedad infecciosa asociada con BCMA en un sujeto que lo necesita,

el que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la reivindicación 41.

44. El método de la reivindicación 43, en donde el sujeto es humano.

45. El método de la reivindicación 43 o 44, en donde el método comprende además la administración de uno o más agentes adicionales en combinación con la proteína triespecífica de unión a BCMA.

46. El método de cualquiera de las reivindicaciones 43-45, que comprende el tratamiento o la mejoría de una enfermedad tumoral, en donde la proteína triespecífica de unión a BCMA se une selectivamente a las células tumorales que expresan BCMA.

47. El método de cualquiera de las reivindicaciones 43-46, que comprende el tratamiento o la mejoría de una enfermedad tumoral, en donde la enfermedad tumoral comprende un cáncer primario o una metástasis del mismo.

48. El método de la reivindicación 47, en donde la enfermedad tumoral comprende un cáncer de linaje de células B.

49. El método de la reivindicación 48, en donde el cáncer de linaje de células B es un mieloma múltiple, una leucemia, un linfoma o una metástasis de los mismos.

50. Una proteína triespecífica de unión al agente de maduración de células AB (BCMA), la que comprende: (a) un primer dominio (A) que se une específicamente a CD3 humano;

(b) un segundo dominio (B) que es un dominio de prolongación de la semivida; y

(c) un tercer dominio (C) que se une específicamente a BCMA,

en donde el tercer dominio comprende una secuencia de amino establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 346-460.

51. Una proteína triespecífica de unión al agente de maduración de células AB (BCMA) que comprende:

(a) un primer dominio (A) que se une específicamente a CD3 humano;

(b) un segundo dominio (B) que es un dominio de prolongación de la semivida; y

(c) un tercer dominio (C) que se une específicamente a BCMA,

en donde el tercer dominio comprende regiones determinantes de la complementariedad CDR1, CDR2 y CDR3, en donde CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 4-117, CDR2 comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 118-231, y CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos establecida como cualquiera de las SEQ ID NO: 232-345.

52. Un método para el tratamiento o mejora de una enfermedad tumoral, una enfermedad autoinmune o una enfermedad de infección asociada con BCMA en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende una proteína triespecífica de unión a BCMA, en donde proteína de unión a BCMA comprende:

(a) un primer dominio (A) que se une específicamente a CD3 humano;

(b) un segundo dominio (B) que es un dominio de prolongación de la semivida; y

(c) un tercer dominio (C) que se une específicamente a BCMA,

en donde los dominios están unidos en el orden H2N-(A)-(C)-(B)-COOH, H2N-(B)-(A)-(C)-COOH, H2N-(C)-(B)-(A)-COOH, H2N-(C)-(A)-(B)-COOH, H2N-(A)-(B)-(C)-COOH, H2N-(B)-(C)-(A)-COOH, en donde los dominios están unidos por los enlazadores L1 y L2.