

REIVINDICACIONES

1. Un constructo de anticuerpo biespecífico de cadena sencilla con vida media prolongada, caracterizado porque comprende tres dominios en un orden de amino a carboxilo, en el que:
 - un primer dominio que tiene una formato de fragmento variable de cadena sencilla (scFv) se une a un antígeno de superficie de una célula diana, en el que el antígeno de la superficie de la célula diana es un antígeno tumoral seleccionado del grupo que consiste de CDH19, MSLN, DLL3, FLT3, EGFRvIII, CD33, CD19, CD20 y CD70;
 - un segundo dominio que tiene una formato scFv se une a un epítipo extracelular de la cadena CD3ε de humano y/o de *Macaca*, en el que un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 1-3 enlaza el primer y segundo dominio; y
 - un tercer dominio, en el que un péptido enlazador que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 1, 2, 3, 9, 10, 11 y 12 enlaza el segundo y el tercer dominio, cuyo tercer dominio comprende dos monómeros polipeptídicos, cada uno comprendiendo una bisagra, un dominio CH2 y uno CH3, en el que dichos dos monómeros polipeptídicos están fusionados entre sí mediante un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 5, 6, 7 y 8, en el que dicho tercer dominio comprende en un orden amino a carboxilo:

bisagra-CH2-CH3-enlazador-bisagra-CH2-CH3,

en el que el sitio de glicosilación en la posición 314 de Kabat de los dominios CH2 en el tercer dominio del constructo de anticuerpo se elimina mediante una sustitución N314G, en el que el dominio CH2 comprende un puente disulfuro de cisteína intradominio y en el que el constructo de anticuerpo preferiblemente no muestra inespecífica activación de células T.
2. El constructo de anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque cada uno de dichos monómeros polipeptídicos tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 17-24.

3. El constructo de anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque
 - (i) el primer dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo y el segundo dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo;
 - (ii) el primer dominio comprende un dominio variable de anticuerpo y el segundo dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo;
 - (iii) el primer dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo y el segundo dominio comprende un dominio variable de anticuerpo; o
 - (iv) el primer dominio comprende un dominio variable de anticuerpo y el segundo dominio comprende un dominio variable de anticuerpo.

4. El constructo de anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones precedentes, caracterizado porque el constructo de anticuerpo comprende en un orden desde el extremo amino al extremo carboxilo:
 - (a) el primer dominio que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 52, 70, 58, 76, 88, 106, 124, 94, 112, 130, 142, 160, 178, 148, 166, 184, 196, 214, 232, 202, 220, 238, 250, 266, 282, 298, 255, 271, 287, 303, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 498, 514, 530, 546, 327, 343, 359, 375, 391, 407, 423, 439, 455, 471, 487, 503, 519, 353, 551, 592, 608, 624, 640, 656, 672, 688, 704, 720, 736, 752, 768, 784, 800, 816, 832, 848, 864, 880, 896, 912, 928, 944, 960, 976, 992, 1008, 1024, 1040, 1056, 1072, 1088, 1104, 1120, 1136, 1152, 1168, 1184, 597, 613, 629, 645, 661, 677, 693, 709, 725, 741, 757, 773, 789, 805, 821, 837, 853, 869, 885, 901, 917, 933, 949, 965, 981, 997, 1013, 1029, 1045, 1061, 1077, 1093, 1109, 1125, 1141, 1157, 1173, 1189, 1277, 1289, 1301, 1313, 1325, 1337, 1349, 1361, 1373, 1385, 1397, 1409, 1421, 1433, 1445;
 - (b) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 1-3;
 - (c) el segundo dominio que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79,

- 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 o 187 de WO 2008/119567 o en SEQ ID NO: 15;
- (d) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 1, 2, 3, 9, 10, 11 y 12;
 - (e) el primer monómero polipeptídico del tercer dominio que tiene una secuencia polipeptídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 17-24;
 - (f) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 5, 6, 7 y 8; y
 - (g) el segundo monómero polipeptídico del tercer dominio que tiene una secuencia polipeptídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 17-24.
5. El constructo de anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizado porque tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:
- (a) SEQ ID NOs: 54, 55, 60, y 61;
 - (b) SEQ ID NOs: 72, 73, 78, y 79;
 - (c) SEQ ID NOs: 90, 91, 96, 97, 108, 109, 114, y 115;
 - (d) SEQ ID NOs: 144, 145, 150, 151, 162, 163, 168, 169, 180, 181, 186, y 187;
 - (e) SEQ ID NOs: 198, 199, 204, 205, 216, 217, 222, 223, 234, 235, 240, y 241;
 - (f) SEQ ID NOs: 252, 306, 257, 307, 268, 308, 273, 309, 284, 310, 289, 311, 300, 312, 305, y 313;
 - (g) SEQ ID NOs: 324, 554, 329, 555, 340, 556, 345, 557, 356, 558, 361, 559, 372, 560, 377, 561, 388, 562, 393, 563, 404, 564, 409, 565, 420, 566, 425, 567, 436, 568, 441, 569, 452, 570, 457, 571, 468, 572, 473, 573, 484, 574, 489, 575, 500, 576, 505, 577, 516, 578, 521, 579, 532, 580, 537, 581, 548, 582, 553, y 583;
 - (h) SEQ ID NOs: 594, 610, 626, 642, 658, 674, 690, 706, 722, 738, 754, 77, 786, 802, 818, 834, 850, 866, 882, 898, 914, 930, 946, 962, 978, 994, 1010, 1026, 1042, 1058, 1074, 1090, 1106, 1122, 1138, 1154, 1170,

1186, 599, 615, 631, 647, 663, 679, 695, 711, 727, 743, 759, 775, 791, 807, 823, 839, 855, 871, 887, 903, 919, 935, 951, 967, 983, 999, 1015, 1031, 1047, 1063, 1079, 1095, 1111, 1127, 1143, 1159, 1175, 1191, y 1192-1267;

(i) SEQ ID NO: 43; y

(j) SEQ ID Nos: 1279, 1280, 1291, 1292, 1303, 1304, 1315, 1316, 1327, 1328, 1339, 1340, 1351, 1352, 1363, 1364, 1375, 1376, 1387, 1388, 1399, 1400, 1411, 1412, 1423, 1424, 1435, 1436, 1447, 1448.

6. Un polinucleótido caracterizado porque codifica un constructo de anticuerpo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Un vector caracterizado porque comprende un polinucleótido como se define en la reivindicación 6.
8. Una célula hospedadora caracterizado porque esta transformada o transfectada con el polinucleótido como se define en la reivindicación 6 o con el vector como se define en la reivindicación 7.
9. Un proceso para la producción de un constructo de anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque dicho proceso comprende cultivar una célula hospedadora como se define en la reivindicación 8 bajo condiciones que permiten la expresión del constructo de anticuerpo como se define en las reivindicaciones 1 a 5 y recuperar el constructo de anticuerpo producido a partir del cultivo.
10. Una composición farmacéutica caracterizado porque comprende un constructo de anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
11. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 10, caracterizado porque es estable durante al menos cuatro semanas a -20°C.