

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de unión a antígeno biespecífica, que comprende

(a) al menos dos fragmentos Fab capaces de unirse de manera específica a CD40 conectados a una región Fc que comprende

5 (1) una región variable de cadena pesada (VHCD40) que comprende (i) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, (ii) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20, y (iii) CDR -H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, y una región variable de
10 cadena ligera (VLCD40) que comprende (iv) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22, (v) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23, y (vi) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24; o

(2) una región variable de cadena pesada (VHCD40) que comprende (i) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27, (ii) CDR-H2 que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28, y (iii) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, y una región variable de cadena ligera (VLCD40) que comprende (iv) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, (v) CDR- L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, y (vi) CDR-L3 que comprende la secuencia de
20 aminoácidos de SEQ ID NO: 32, y

(b) un dominio de unión a antígeno capaz de unirse específicamente a la Proteína de Activación de Fibroblastos (FAP) conectada al extremo C-terminal de la región Fc que comprende una región variable de cadena pesada (VHFAP) que comprende (i)
25 CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, (ii) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y (iii) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, y una región variable de cadena ligera (VLFAP) que comprende (iv) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, (v) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15, y (vi) CDR-L3 que comprende la secuencia de
30 aminoácidos de SEQ ID NO: 16, donde la región Fc es (i) de la subclase IgG1 humana con las mutaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G (numeración según el índice Kabat EU), o (ii) de la subclase IgG1 de ratón con las mutaciones de aminoácidos D265A y P329G (numeración según el índice de la UE de Kabat).

2. La molécula de unión a antígeno biespecífica de la reivindicación 1 , 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.
- 5 3. La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde el dominio de unión a antígeno capaz de unirse de manera específica a FAP comprende 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.
- 10 4. La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 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
 - 15 VL 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
 - VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34.
- 20 5. La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 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 VL 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 VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177 o
 - 25 (c) una V_H 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: 178 o
 - (d) una V_H 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: 177 o
 - 30 (e) una V_H 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: 178 o
 - (f) una V_H 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: 175 o

- (g) 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: 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
- 5 (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
10 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
- 15 (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
20 una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176.
- 6.** La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o 5, 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:
25 175.
- 7.** La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, 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
30 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
- 5 (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
10 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
- 15 (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
20 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.
- 8.** La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o 7, 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.
25
30
- 9.** La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1

a 8, 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.

5

10. La molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la molécula de unión a antígeno biespecífica comprende cuatro fragmentos Fab capaces de unirse específicamente a CD40.

10

11. Un polinucleótido que codifica la molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

12. Un vector de expresión que comprende el polinucleótido de la reivindicación 11.

13. Una línea celular que comprende el polinucleótido de la reivindicación 11 o el vector de expresión de la reivindicación 12.

15

14. Un método *in vitro* para producir una molécula de unión a antígeno biespecífica, que comprende cultivar la línea celular de la reivindicación 13 en condiciones adecuadas para la expresión de la molécula de unión a antígeno biespecífica y aislar la molécula de unión a antígeno biespecífica.

20

15. Una composición farmacéutica que comprende la molécula de unión a antígeno biespecífica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.