

REIVINDICACIONES

1. Una proteína que comprende:
 - (a) un primer sitio de unión a antígeno de una molécula de inmunoglobulina que se une a NKG2D;
 - (b) un segundo sitio de unión a antígeno de una molécula de inmunoglobulina que se une a FLT3; y
 - (c) un dominio Fc de anticuerpo o una porción de este suficiente para unirse a CD16, o un tercer sitio de unión a antígeno de una molécula de inmunoglobulina que se une a CD16.
2. La proteína de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el primer sitio de unión al antígeno se une a NKG2D humana y de mono cynomolgus.
3. La proteína de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.
4. La proteína de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera están presentes en el mismo polipéptido.
5. La proteína de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en donde el segundo sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.
6. La proteína de acuerdo con la reivindicación 5, en donde el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera del segundo sitio de unión al antígeno están presentes en el mismo polipéptido.
7. La proteína de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, en donde el dominio variable de cadena ligera del primer sitio de unión al antígeno tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos del dominio variable de cadena ligera del segundo sitio de unión al antígeno.
8. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:41, SEQ ID NO:49, SEQ ID NO:57 y SEQ ID NO:59.
9. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:41 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:42.

10. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:49 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:50.

11. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:57 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:58.

12. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:59 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:60.

13. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:101 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:102.

14. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:103 y una secuencia de aminoácidos de dominio variable de cadena ligera 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO:104.

15. La proteína de acuerdo con cualquier de las reivindicaciones 1-7, en donde el primer sitio de unión al antígeno comprende:

(i) una secuencia de CDR1 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43, una secuencia de CDR2 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44, una secuencia de CDR3 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, una secuencia de CDR1 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46, una secuencia de CDR2 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y una secuencia de CDR3 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48;

(ii) una secuencia de CDR1 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una secuencia de CDR2 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una secuencia de CDR3 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, una secuencia de CDR1 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54, una secuencia de CDR2 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y una secuencia de CDR3 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56; o

(iii) una secuencia de CDR1 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134, una secuencia de CDR2 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una secuencia de CDR3 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136, una secuencia de CDR1 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137, una secuencia de CDR2 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138 y una secuencia de CDR3 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139.

16. La proteína de la reivindicación 1 o 2, en donde el primer sitio de unión al antígeno es un anticuerpo de dominio único.

17. La proteína de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el anticuerpo de dominio único es un fragmento V_HH o un fragmento V_{NAR}.

18. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2 o 16-17, en donde el segundo sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.

19. La proteína de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera del segundo sitio de unión al antígeno están presentes en el mismo polipéptido.

20. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde el segundo sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO: 109 y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO: 113.

21. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde el segundo sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO: 117 y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO: 121.

22. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde el segundo sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO: 125 y un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos 95% - 100% idéntica a la SEQ ID NO: 129.

23. La proteína según cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en la que el segundo sitio de unión al antígeno comprende:

(i) una secuencia de CDR1 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 110, una secuencia de CDR2 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111, una secuencia de CDR3 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112, una secuencia de CDR1 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 114, una secuencia de CDR2 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 y una secuencia de CDR3 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:116;

(ii) una secuencia de CDR1 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118, una secuencia de CDR2 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119, una secuencia de CDR3 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una secuencia de CDR1 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122, una secuencia de CDR2 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123 y una secuencia de CDR3 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:124; o

(iii) una secuencia de CDR1 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una secuencia de CDR2 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127, una secuencia de CDR3 de cadena pesada idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128, una secuencia de CDR1 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una secuencia de CDR2 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una secuencia de CDR3 de cadena ligera idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:132.

24. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 u 8-17, en donde el segundo sitio de unión al antígeno es un anticuerpo de dominio único.

25. La proteína de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el segundo sitio de unión al antígeno es un fragmento V_HH o un fragmento V_{NAR}.

26. La proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la proteína comprende una parte de un dominio Fc de anticuerpo suficiente para unirse a CD16, en donde el dominio Fc de anticuerpo comprende dominios bisagra y CH2.

27. La proteína de acuerdo con la reivindicación 26, en donde el dominio Fc del anticuerpo comprende dominios bisagra y CH2 de un anticuerpo IgG1 humano.

28. La proteína de acuerdo con la reivindicación 26 o 27, en donde el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos 90% - 100% idéntica a los aminoácidos 234-332 de un anticuerpo IgG1 humano.

29. La proteína de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos 90% -100% idéntica al dominio Fc de la IgG1 humana y difiere en la posición Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411, o K439.

30. La proteína de acuerdo con la reivindicación 29, en donde dicho dominio Fc comprende una sustitución K360E, K409W, Q347R, D399V o F405T.

31. Una formulación que comprende la proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes y un portador farmacéuticamente aceptable.
32. Una célula que comprende un ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de la proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-20.
33. Un método *in vitro* o *ex vivo* para potenciar directa y/o indirectamente la muerte de células tumorales, que comprende exponer la célula tumoral y una célula asesina natural a una cantidad efectiva de la proteína de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30.