

SE REIVINDICA LO SIGUIENTE:

1. Un dímero de polipéptidos Fc modificado, o un fragmento dimérico de este, que:

- (a) se une específicamente a TfR;
- (b) es capaz de unirse a un receptor de Fc γ (Fc γ R); y
- (c) no disminuye considerablemente los reticulocitos *in vivo*.

2. Un dímero de polipéptidos Fc modificado, o un fragmento dimérico de este, que comprende:

(a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende (i) un sitio de unión a TfR y (ii) una o más modificaciones de aminoácidos que reducen la unión a Fc γ R cuando se une a TfR; y

(b) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a Fc γ R.

3. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 1 o 2, en donde el sitio de unión a TfR comprende un dominio CH3 modificado,

opcionalmente, en donde el dominio CH3 modificado deriva de un dominio CH3 de una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana; y/o

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende cinco, seis, siete, ocho o nueve sustituciones en un conjunto de posiciones de aminoácidos que comprende 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con la numeración EU y además opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además una, dos, tres o cuatro sustituciones en las posiciones que comprenden 380, 391, 392 y 415 y/o además opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además una, dos o tres sustituciones en las posiciones que comprenden 414, 424 y 426.

4. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al dominio apical de TfR, opcionalmente en donde el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al TfR sin inhibir la unión de la transferrina a TfR y/u opcionalmente en donde el dímero de polipéptidos Fc modificado se une a un epítipo que comprende el aminoácido 208 de TfR.

5. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 3 o 4, en

donde

(a) el dominio CH3 modificado comprende Trp en la posición 388 y/o en donde el dominio CH3 modificado comprende un aminoácido aromático en la posición 421, opcionalmente en donde el aminoácido aromático en la posición 421 es Trp o Phe; o

(b) el dominio CH3 modificado comprende al menos una posición que se selecciona de las siguientes: la posición 384 es Leu, Tyr, Met o Val; la posición 386 es Leu, Thr, His o Pro; la posición 387 es Val, Pro o un aminoácido ácido; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Val, Ser o Ala; la posición 413 es Glu, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro; la posición 416 es Thr o un aminoácido ácido; y la posición 421 es Trp, Tyr, His o Phe, opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho posiciones que se seleccionan de las siguientes: la posición 384 es Leu, Tyr, Met o Val; la posición 386 es Leu, Thr, His o Pro; la posición 387 es Val, Pro o un aminoácido ácido; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Val, Ser o Ala; la posición 413 es Glu, Ala, Ser, Leu, Thr o Pro; la posición 416 es Thr o un aminoácido ácido; y la posición 421 es Trp, Tyr, His o Phe.

6. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en donde

(a) el dominio CH3 modificado comprende Leu o Met en la posición 384; Leu, His o Pro en la posición 386; Val en la posición 387; Trp en la posición 388; Val o Ala en la posición 389; Pro en la posición 413; Thr en la posición 416; y/o Trp en la posición 421.

opcionalmente en donde el polipéptido de dominio CH3 modificado comprende además Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391; y/u

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380; y/u

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además Gln, Phe o His en la posición 392; y/u

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además Trp en la posición 380 y/o Gln en la posición 392; u

(b) en donde el dominio CH3 modificado comprende Tyr en la posición 384, Thr en la posición 386, Glu o Val en la posición 387, Trp en la posición 388, Ser en la posición 389, Ser o Thr en la posición 413, Glu en la posición 416 y/o Phe en la posición 421,

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además Trp, Tyr, Leu o Gln en la posición 380; y/u

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además Glu en la posición 415; u

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende además Trp en la posición 380 y/o Glu en la posición 415; y/u

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende Asn en la posición 390.

7. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 5 o 6, en donde el dominio CH3 modificado comprende además una, dos o tres posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 414 es Lys, Arg, Gly o Pro; la posición 424 es Ser, Thr, Glu o Lys; y la posición 426 es Ser, Trp o Gly.

8. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 3 o 4, en donde el dominio CH3 modificado comprende Trp en la posición 380; Thr en la posición 386; Trp en la posición 388; Val en la posición 389; Ser o Thr en la posición 413; Glu en la posición 415; y/o Phe en la posición 421

9. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en donde

(a) el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 4-29 y 64-127, opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270; o

(b) en donde el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad respecto a los aminoácidos 111-217 de la SEQ ID NO:1 siempre que el porcentaje de

identidad no incluya el conjunto de posiciones 384, 386, 387, 388, 389, 390, 413, 416 y 421, de acuerdo con la numeración EU.

10. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 9, en donde el dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 154-160 y/o 183-191 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29 y 125-127.

11. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 3 o 4, en donde el dominio CH3 modificado comprende al menos una posición seleccionada de las siguientes: posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe, opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11 posiciones seleccionadas de las siguientes: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe, y además opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado comprende 11 posiciones como a continuación: la posición 380 es Trp, Leu o Glu; la posición 384 es Tyr o Phe; la posición 386 es Thr; la posición 387 es Glu; la posición 388 es Trp; la posición 389 es Ser, Ala, Val o Asn; la posición 390 es Ser o Asn; la posición 413 es Thr o Ser; la posición 415 es Glu o Ser; la posición 416 es Glu; y la posición 421 es Phe.

12. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 11, en donde el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 4-29 y 64-127,

opcionalmente en donde el dominio CH3 modificado tiene al menos 85 % de identidad, al menos 90 % de identidad o al menos 95 % de identidad con respecto a los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 66, 68, 94, 107-109, 119 y 268-270; u

opcionalmente en donde los residuos de al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 de las posiciones correspondientes a las posiciones 380, 384, 386, 384, 388, 389,

390, 391, 392, 413, 414, 415, 416, 421, 424 y 426, de acuerdo con el esquema de numeración EU, no se eliminan o sustituyen.

13. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 3, en donde el dominio CH3 modificado comprende una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NOS:38-61 y 131-173.

14. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 12, en donde el dominio CH3 modificado comprende además (i) un Trp en la posición 366 o (ii) una Ser en la posición 366, una Ala en la posición 368 y una Val en la posición 407, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

15. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 3 a 14, en donde el dominio CH3 sin modificar correspondiente es un dominio CH3 de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana.

16. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15, en donde las modificaciones de aminoácidos que reducen la unión al Fc γ R, cuando se une al TfR, comprenden Ala en la posición 234 y en la posición 235, de acuerdo con el esquema de numeración EU; y/o

en donde el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden las modificaciones de aminoácidos que aumentan la semivida en suero, opcionalmente en donde las modificaciones de aminoácidos que aumentan la semivida en suero comprenden (i) una Leu en la posición 428 y una Ser en la posición 434 o (ii) una Ser o Ala en la posición 434, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

17. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en donde el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc se fusiona además a un Fab.

18. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 17, en donde

(a) el primer polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W y el segundo polipéptido Fc comprende mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración de EU; o

(b) el primer polipéptido Fc comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A e Y407V y el segundo polipéptido Fc comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

19. Un dímero de polipéptidos Fc modificado, que comprende:

(i) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 y 310; y/o en donde el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:397; o

(ii) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 y 386; y/o en donde el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:397; o

(iii) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:178, 190, 202, 214, 226, 238, 252, 286, 298 y 310; y/o en donde el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:407; o

(iv) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:323, 330, 337, 344, 351, 358, 365, 372, 379 y 386; y/o en donde el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:407; o

(v) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 y 316; y/o el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:391; o

(vi) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 y 389; y/o en donde el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:391; o

(vii) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A y mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de

numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:184, 196, 208, 220, 232, 244, 280, 292, 304 y 316, y/o el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:404; o

(viii) (a) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende un sitio de unión a TfR, las modificaciones de aminoácidos L234A y L235A, las mutaciones de ojal T366S, L368A y Y407V y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W y la modificación de aminoácidos N434S con o sin M428L, de acuerdo con el esquema de numeración EU y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, opcionalmente en donde el primer polipéptido Fc comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NOS:326, 333, 340, 347, 354, 361, 368, 375, 382 y 389; y/o el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:404.

20. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, en donde

(i) el dímero de polipéptidos Fc modificado no disminuye considerablemente los reticulocitos, opcionalmente

(a) en donde una cantidad de reticulocitos disminuida después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que una cantidad de reticulocitos disminuida luego de la administración de un testigo, además opcionalmente en donde una cantidad de reticulocitos disminuida luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 % de una cantidad de reticulocitos disminuida luego de la administración de un testigo; o

(b) en donde una cantidad de reticulocitos restante después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es mayor que una cantidad de reticulocitos restante luego de la administración de un testigo, además opcionalmente en donde una cantidad de reticulocitos restante luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es al menos 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % mayor que una cantidad

de reticulocitos restante luego de la administración de un testigo.

(ii) el dímero de polipéptidos Fc modificado no disminuye considerablemente los reticulocitos en médula ósea, opcionalmente

(a) en donde una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea luego de la administración de un testigo, además opcionalmente en donde una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es menor que 50 %, 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 %, 2 % o 1 % de una cantidad de reticulocitos disminuida en la médula ósea luego de la administración de un testigo;

(b) en donde una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea después de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es mayor que una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea luego de la administración de un testigo, además opcionalmente en donde una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea luego de la administración del dímero de polipéptidos Fc modificado es al menos 1 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % mayor que una cantidad de reticulocitos restante en la médula ósea luego de la administración de un testigo, opcionalmente en donde el testigo es un dímero Fc de unión a TfR correspondiente con la función efectora total y/o que no conserva mutaciones que reduzcan la unión a FcγR.

21. Una proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc que se puede transportar en forma activa a través de la BHE, donde la proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc comprende:

(a) una región variable de anticuerpo que puede unirse a un antígeno, o un fragmento de unión al antígeno de este; y

(b) un dímero de polipéptidos Fc modificado que comprende (i) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR, que comprende un sitio de unión a TfR y una o más modificaciones de aminoácidos que reduzcan la unión a FcγR cuando se une a TfR, y (ii) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR,

opcionalmente en donde las modificaciones de aminoácidos que reducen la unión

al Fc γ R, cuando se une al TfR, comprenden Ala en la posición 234 y en la posición 235, de acuerdo con el esquema de numeración EU; y/o

en donde el primer polipéptido Fc y/o el segundo polipéptido Fc comprenden las modificaciones de aminoácidos que aumentan la semivida en suero, además opcionalmente en donde las modificaciones de aminoácidos que aumentan la semivida en suero comprenden (i) una Leu en la posición 428 y una Ser en la posición 434 o (ii) una Ser o Ala en la posición 434, de acuerdo con el esquema de numeración EU.

22. La proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc de la reivindicación 21, en donde la secuencia de región variable del anticuerpo comprende un dominio Fab; y/o en donde la secuencia de región variable de anticuerpo comprende dos cadenas pesadas de región variable de anticuerpo y dos cadenas ligeras de región variable de anticuerpo, o sus respectivos fragmentos.

23. Una proteína de fusión dímero-Fab del polipéptido Fc que es capaz de ser transportada activamente a través de BBB, la proteína de fusión dímero-Fab del polipéptido Fc que comprende:

(1) (a) una región variable de anticuerpo que es capaz de unirse a un antígeno, o fragmento de unión a antígeno del mismo; y (b) un dímero de polipéptido Fc modificado que comprende (i) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 214, y (ii) un segundo polipéptido Fc que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 397; o

(2) (a) una región variable de anticuerpo que es capaz de unirse a un antígeno, o fragmento de unión a antígeno del mismo; y (b) un dímero de polipéptido Fc modificado que comprende (i) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 344, y (ii) un segundo polipéptido Fc que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 407; o

(3) (a) una región variable de anticuerpo que es capaz de unirse a un antígeno, o fragmento de unión a antígeno del mismo; y (b) un dímero de polipéptido Fc modificado que comprende (i) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 202, y (ii) un segundo polipéptido Fc que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 397; o

(4) (a) una región variable de anticuerpo que es capaz de unirse a un antígeno, o fragmento de unión a antígeno del mismo; y (b) un dímero de polipéptido Fc modificado

que comprende (i) un primer polipéptido Fc que se une específicamente a TfR que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 337, y (ii) un segundo polipéptido Fc que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 407.

24. Una composición farmacéutica que comprende:

(a) el dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 y un portador farmacéuticamente aceptable; o

(b) la proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc de cualquiera de las reivindicaciones 21 a 23 y un portador farmacéuticamente aceptable.