

**SE REIVINDICA LO SIGUIENTE:**

1. Un dímero de polipéptidos Fc modificado, que:
  - (a) comprende un dominio CH3 modificado que se une específicamente a TfR;
  - (b) es capaz de unirse a un receptor de Fc $\gamma$  (Fc $\gamma$ R); y
  - (c) no disminuye considerablemente los reticulocitos *in vivo*.

donde el dominio CH3 modificado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho posiciones seleccionadas 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, según la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3; o

en el que el dominio CH3 modificado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once posiciones seleccionadas entre 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 o Val; 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, según la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

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

(a) un primer polipéptido Fc que comprende (i) un dominio CH3 modificado que se une específicamente a TfR y (ii) modificaciones de aminoácidos que reducen la unión a Fc $\gamma$ R cuando se une a TfR que comprende Ala en la posición 234 y en la posición 235, según el esquema de numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3; y

(b) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a Fc $\gamma$ R,

donde el dominio CH3 modificado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho posiciones seleccionadas 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, según la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3; o

en el que el dominio CH3 modificado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once posiciones seleccionadas entre 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 o Val; 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, según la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

3. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 1 o 2, en donde el dominio CH3 modificado comprende además una, dos, tres o cuatro sustituciones seleccionadas de las siguientes: Trp, Leu o Glu en la posición 380; Ser, Thr, Gln o Phe en la posición 391; Gln, Phe o His en la posición 392; y Glu y Ser en la posición 415, de acuerdo con la numeración de EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

4. El dímero de polipeptidos Fc de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el dominio CH3 modificado comprende además una, dos o tres sustituciones seleccionadas de las siguientes: Lys, Arg, Gly o Pro en posición 426, de acuerdo con la numeración de EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

5. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al dominio apical de TfR.

6. El dímero de polipeptidos Fc de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el dímero de polipéptidos Fc modificado se une al TfR sin inhibir la unión de la transferrina a TfR.

7. El dímero de polipeptidos Fc de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el dímero de polipéptidos Fc modificado se une a un epítipo que comprende el aminoácido 208 de TfR.

8. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde

(a) el dominio CH3 modificado comprende Trp, Tyr, Leu o Gln en posición 380; 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; Ser, Thr, Gln o Phe en posición 391;

Gln, Phe o His en posición 392; Pro en la posición 413; Thr en la posición 416; Trp en la posición 421, o una combinación de los mismos, de acuerdo con la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO:3; u

(b) el dominio CH3 modificado comprende Trp, Tyr, Leu o Gln en posición 380; 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; Asn en posición 390; Ser o Thr en la posición 413; Glu en posición 415; Glu en la posición 416; Phe en la posición 421, o una combinación de los mismos, de acuerdo con la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

9. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, 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; Phe en la posición 421, o una combinación de los mismos, de acuerdo con la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

10. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde

(a) el dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 4-29 y 64-127; o

(b) en donde el dominio CH3 modificado comprende los aminoácidos 111-217 de cualquiera de las SEQ ID NOS: 66, 68, 94, 107-109, 119, y 268-270.

11. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el dominio CH3 modificado comprende (i) los aminoácidos 154-160 o 183-191 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29 y 125-127, o (ii) los aminoácidos 154-160 y 183-191 de cualquiera de las SEQ ID NOS:4-29 y 125-127.

12. El dímero de polipéptidos Fc modificado de la reivindicación 3 o 4, en donde el dominio CH3 modificado comprende una secuencia de una cualquiera de las SEQ ID NOS:38-61 y 131-173.

13. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, 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 y determinado con referencia a la SEQ ID NO: 3.

14. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el dominio CH3 sin modificar correspondiente es un dominio CH3 de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana.

15. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 14, en donde el primer polipéptido Fc, el segundo polipéptido Fc, o ambos polipéptidos Fc comprenden las modificaciones de aminoácidos que comprende (i) una Leu en la posición 428 y una Ser en la posición 434, o (ii) una Ser o Ala en la posición 434, según el esquema de numeración EU y determinado con referencia a la SEQ ID NO: 1, que aumentan la semivida en suero.

16. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15, 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 y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1; 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 y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1.

17. 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W, de acuerdo con el esquema de numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y (b) un segundo polipéptido Fc que comprende una mutación de botón T366W de acuerdo con el esquema de numeración EU y determinada con referencia a la SEQ ID NO: 1 y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, 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 determinadas con referencia a la SED ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO:1, 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 determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, y que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR, 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 el segundo polipéptido Fc comprende la secuencia de la SEQ ID NO:404.

18. El dímero de polipéptido Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 17, en el que el primer polipéptido Fc, el segundo polipéptido Fc, o tanto el primer como el segundo polipéptido Fc se fusionan además con un Fab.

19. El dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, en donde

(i) el dímero de polipéptidos Fc modificado no disminuye considerablemente los reticulocitos; o

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

20. Una proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico 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 comprende un dominio CH3 modificado que se une específicamente a TfR y modificaciones de aminoácidos que reduzcan la unión a FcγR cuando se une a TfR que comprenden Ala en la posición 234 y en la posición 235, de acuerdo con el esquema de numeración EU y determinado con referencia a la SEQ ID NO:1, y (ii) un segundo polipéptido Fc que no contiene un sitio de unión a TfR ni ninguna modificación que reduzca la unión a FcγR,

en el que el dominio CH3 modificado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete u ocho posiciones seleccionadas entre 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, según la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3 ; o

en el que el dominio CH3 modificado comprende una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez u once posiciones seleccionadas entre 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 o Val; 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, según la numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 3.

21. La proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico Fc de la reivindicación 20, en la que el primer polipéptido Fc, el segundo polipéptido Fc, o tanto el primer como el segundo polipeptido Fc comprenden modificaciones de aminoácidos que comprenden (i) un Leu en la posición 428 y un Ser en la posición 434, o (ii) un Ser o Ala en la posición 434, según el esquema de numeración EU y determinadas con referencia a la SEQ ID NO: 1, que aumentan la vida media en suero.

22. La proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico Fc de la reivindicación 20 o 21, en donde la secuencia de región variable del anticuerpo comprende un dominio Fab, 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 una combinación de las mismas.

23. La proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico Fc de una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 22, en la que la región variable del anticuerpo es capaz de unirse a beta amiloide (A $\beta$ ).

24. La proteína de fusión Fab-dímero de polipéptido Fc- de la reivindicación 23, que comprende:

- (i) una primera cadena pesada que comprende la secuencia de SEQ ID NO:417;
- (ii) una segunda cadena pesada que comprende la secuencia de SEQ ID NO:419;
- y
- (iii) dos cadenas ligeras, cada una de las cuales comprende la secuencia de SEQ ID NO:420.

25. Una proteína de fusión Fab-dímero del polipéptido Fc que es capaz de ser transportada activamente a través de la BHE, 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 de la misma; 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 de la misma; 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 de la misma; 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 de la misma; 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.

26. Una composición farmacéutica que comprende:

(a) el dímero de polipéptidos Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 y un portador farmacéuticamente aceptable; o

(b) la proteína de fusión Fab-dímero de polipéptidos Fc de cualquiera de las reivindicaciones 20 a 25 y un portador farmacéuticamente aceptable.

27. Uno o más ácidos nucleicos que comprenden:

(a) una o más secuencias que codifican el dímero de polipéptido Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19; o

(b) una o más secuencias que codifican la proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico Fc- de cualquiera de las reivindicaciones 20 a 25.

28. Uno o más vectores que comprenden los uno o más ácidos nucleicos de la reivindicación 27.

29. Una célula huésped que comprende los uno o más ácidos nucleicos de la reivindicación 27 o los uno o más vectores de la reivindicación 28.

30. Un método para preparar el dímero de polipéptido Fc modificado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 29 en condiciones adecuadas para la expresión del dímero de polipéptido Fc modificado.

31. Un método para preparar la proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico Fc de una cualquiera de las reivindicaciones 20 a 25, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 29 en condiciones adecuadas para la expresión de la proteína de fusión Fab-dímero polipeptídico Fc.