

REIVINDICACIONES

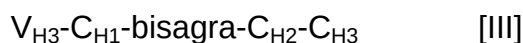
1. Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:



en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2} ; y

L_1 , L_2 , L_3 y L_4 son conectores de aminoácidos cada uno de los cuales tiene una longitud independiente de 0 a 100 aminoácidos;

en donde el polipéptido de fórmula I y el polipéptido de fórmula II forman un par de cadena ligera-cadena pesada cruzadas;

en donde V_{H1} y V_{L1} forman un primer sitio de unión a antígeno que se une a un polipéptido CD28, en el que el dominio V_{H1} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GYTFTSY (SEQ ID NO:49), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPGNVNT (SEQ ID NO:50), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO:51), y el dominio V_{L1} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QNIYVW (SEQ ID NO:52), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de KAS (SEQ ID NO:53), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQGQTYPY (SEQ ID NO:54);

en donde V_{H2} y V_{L2} forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une a un polipéptido CD3, en donde el dominio V_{H2} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFTFTKAW (SEQ ID NO: 55), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IKDKSNSYAT (SEQ ID NO: 56), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO: 57), y el dominio V_{L2} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo formado por QSLVHQNAQTY (SEQ ID NO:59), QSLVHENLQTY (SEQ ID NO:60), QSLVHENLFTY (SEQ ID NO:61) y QSLVHENLRTY (SEQ ID NO:62), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de KVS (SEQ ID NO: 64), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de GQGTQYPFT (SEQ ID NO: 65);
y

en donde V_{H3} y V_{L3} forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une a un polipéptido HER2 humano, en donde:

(a) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIKDTY (SEQ ID NO:1) o GFNIRDY (SEQ ID NO:2), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTNGYT (SEQ ID NO:3), IYPTQGYT (SEQ ID NO:4), o IYPTNAYT (SEQ ID NO:5), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:6), SRWGGEGFYAMDY (SEQ ID NO:7),

o SRWGGSGFYAMDY (SEQ ID NO:8), Y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9) o QDVQTA (SEQ ID NO:10), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12);

(b) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIKDTY (SEQ ID NO:1), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTNGYT (SEQ ID NO:3), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:6), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12);

(c) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIRDY (SEQ ID NO:2), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTQGYT (SEQ ID NO:4), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGEGFYAMDY (SEQ ID NO:7), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12);

(d) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIRDY (SEQ ID NO:2), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTNAYT (SEQ ID NO:5), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGSGFYAMDY (SEQ ID NO:8), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de

SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12);

(e) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIRDY (SEQ ID NO:2), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTQGYT (SEQ ID NO:4), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGSGFYAMDY (SEQ ID NO:8), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12);

(f) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIRDY (SEQ ID NO:2), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTNAYT (SEQ ID NO:5), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGEGFYAMDY (SEQ ID NO:7), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12); o bien

(g) el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIKDY (SEQ ID NO:1), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTNGYT (SEQ ID NO:3), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:6), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVQTA (SEQ ID NO:10), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12).

2. La proteína de unión de la reivindicación 1, en donde el dominio V_{H1}

comprende la secuencia de aminoácidos de

QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGSIY
PGNVNTNYAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCTRSYGLD
WNFDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 91), y el dominio V_{L1} comprende la
secuencia de aminoácidos de
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKLLIYKASN
LHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDATYYCQQGQTPYTFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO: 92).

3. La proteína de unión de la reivindicación 1 o 2, en donde el dominio V_{H2} comprende la secuencia de aminoácidos de

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTKAWMHWRQAPGKQLEWVAQ
IKDKSNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCRGVYY
ALSPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 93) o

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTKAWMHWRQAPGKQLEWVAQ
IKDKSNSYATYYASSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCRGVYY
ALSPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 302), y el dominio V_{L2} comprende una
secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHQNAQTYLSWYLQKPGQSPQSLI
YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGS
GTKVEIK (SEQ ID NO: 95),

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHENLQTYLSWYLQKPGQSPQSLI
YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGS
GTKVEIK (SEQ ID NO: 96),

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHENLFTYLSWYLQKPGQSPQSLIY
KVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGSG
TKVEIK (SEQ ID NO: 97), y

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHENLRTYLSWYLQKPGQSPQSLI
YKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGS
GTKVEIK (SEQ ID NO: 98).

4. La proteína de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde:

(a) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY

PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 72),
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDYIHWRQAPGKGLEWVARIY
PTQGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 73),
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDYIHWRQAPGKGLEWVARIY
PTQGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGSGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 74),
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDYIHWRQAPGKGLEWVARIY
PTNAYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGSGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 75), o
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDYIHWRQAPGKGLEWVARIY
PTNAYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 76), y el dominio V_{L3} comprende la
secuencia de aminoácidos de
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 77) o
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVQTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 78);

(b) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY
PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 72), y el dominio V_{L3} comprende la
secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 77);

(c) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDYIHWRQAPGKGLEWVARIY
PTQGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGF

YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 73), y el dominio V_{L3} comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 77);

(d) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY
PTNAYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGSGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 75), y el dominio V_{L3} comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 77);

(e) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY
PTQGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGSGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 74), y el dominio V_{L3} comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 77);

(f) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY
PTNAYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 76), y el dominio V_{L3} comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 77); o

(g) el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIY
PTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 72), y el dominio V_{L3} comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDVQTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO: 78).

5. La proteína de unión de la reivindicación 1, en donde:

(a) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103;

(b) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107;

(c) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115;

(d) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131;

(e) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; y la cuarta cadena

polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139;

(f) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143;

(g) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(h) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155;

(i) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;

(j) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 291; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 292; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 293;

(k) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 294; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 295; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 296; y la cuarta cadena

polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 297; o

(l) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 298; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 299; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 300; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 301.

6. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde al menos uno de L_1 , L_2 , L_3 o L_4 tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

7. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde (a) L_1 , L_2 , L_3 y L_4 tienen cada uno independientemente cero aminoácidos de longitud o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 69), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 68), GQPKAAP (SEQ ID NO: 67), y GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 71); o (b) L_1 , L_2 , L_3 y L_4 comprenden cada uno independientemente una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 69), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 70), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 68), GQPKAAP (SEQ ID NO: 67), y GGS GSSGSGG (SEQ ID NO: 71).

8. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde L_1 comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 67), L_2 comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 68), L_3 comprende la secuencia S, y L_4 comprende la secuencia RT.

9. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde al menos uno de L_1 , L_2 , L_3 o L_4 comprende la secuencia DKTHT (SEQ ID NO: 66).

10. La proteína de unión de la reivindicación 9, en donde L_1 , L_2 , L_3 y L_4 cada una independientemente comprenden la secuencia DKTHT (SEQ ID NO: 66).

11. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-10, en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de IgG4 humana, y en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A.

12. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-10, en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de IgG4 humana, y en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 233-236 de IgG4 humana según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son E233P, F234V, L235A, y una delección en 236.

13. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-12, en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de IgG4 humana, y en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K.

14. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-10, en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de IgG1 humana, y en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234, 235, y 329 de IgG1 humana según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A, L235A, y P329A.

15. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-10, en donde los dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de IgG1 humana, y en donde los

dominios bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 298, 299, y 300 de IgG1 humana según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S298N, T299A, y Y300S.

16. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-15, en donde el dominio bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, y 407 de IgG1 o IgG4 humanas según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, y Y407V; y en donde el dominio bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humanas según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W.

17. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y 6-15, en donde el dominio bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humanas según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde el dominio bisagra $C_{H2}-C_{H3}$ de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, y 407 de IgG1 o IgG4 humanas según el Índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, y Y407V.

18. La proteína de unión de la reivindicación 1, en donde:

V_{H1} y V_{L1} forman un primer sitio de unión a antígeno que se une a un polipéptido CD28, en el que el dominio V_{H1} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GYTFTSY (SEQ ID NO:49), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPGNVNT (SEQ ID NO:50), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO:51), y el dominio V_{L1} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de

aminoácidos de QNIYVW (SEQ ID NO:52), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de KAS (SEQ ID NO:53), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQGQTYPY (SEQ ID NO:54);

V_{H2} y V_{L2} forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une a un polipéptido CD3, en el que el dominio V_{H2} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFTFTKAW (SEQ ID NO:55), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IKDKSNSYAT (SEQ ID NO:56), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO:57), y el dominio V comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QSLVHQNAQTY (SEQ ID NO:59):57), y el dominio V_{L2} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos QSLVHQNAQTY (SEQ ID NO:59), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos KVS (SEQ ID NO:64), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos GQGTQYPFT (SEQ ID NO:65);

V_{H3} y V_{L3} forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une a un polipéptido HER2 en el que el dominio V_{H3} comprende una secuencia CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIRDY (SEQ ID NO:2), una secuencia CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de IYPTQGYT (SEQ ID NO:4), y una secuencia CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SRWGGEGFYAMDY (SEQ ID NO:7), y el dominio V_{L3} comprende una secuencia CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de QDVNTA (SEQ ID NO:9), una secuencia CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SAS (SEQ ID NO:11), y una secuencia CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QQHYTTP (SEQ ID NO:12).

19. La proteína de unión de la reivindicación 18, en donde:

el dominio V_{H1} comprende la secuencia de aminoácidos
QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCASGYTFTSYIHWVRQAPGQGLEWIGSIY
PGNVNTNYAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCTRSYGLD
WNFDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:91), y el dominio V_{L1} comprende la
secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQNIYVWLNWYQQKPGKAPKLLIYKASN
LHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDATYYCQGQTYPTFGQGTKLEIK
(SEQ ID NO:92);

el dominio V_{H2} comprende la secuencia de aminoácidos de
QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFTKAWMHWRQAPGKQLEWVAQ
IKDKSNSYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCRGVYY
ALSPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:93); y el dominio V_{L2} comprende la
secuencia aminoácida de
DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLVHQNAQTYLSWYLQKPGQSPQSLI
YKVSNRFSGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQYPFTFGSGT
KVEIK (SEQ ID NO:95); y

el dominio V_{H3} comprende la secuencia de aminoácidos de
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIRDYIHWVRQAPGKGLEWVARIY
PTQGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGEGLF
YAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:73), y el dominio V_{L3} comprende la
secuencia de aminoácidos de
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASF
LYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQGHYTPPTFGQGTKVEI
K (SEQ ID NO:77).

20. La proteína de unión de la reivindicación 18 o 19, en donde L_1 , L_2 , L_3 y L_4 comprenden cada una independientemente la secuencia DKTHT (SEQ ID NO:66).

21. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 18-20, en donde los dominios bisagra-C - C_{H2H3} de la segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios bisagra-C - C_{H2H3} de IgG4 humana, y en la que los dominios bisagra-C - C_{H2H3} comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en posiciones correspondientes a las posiciones 228, 234, 235 y 409 de IgG4 humana según el Índice UE, en las que las sustituciones de aminoácidos son S228P, F234A, L235A y R409K.

22. Una molécula de ácido nucleico asilada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de unión de una cualquiera de las

reivindicaciones 1-21.

23. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 22.

24. Una célula hospedera aislada que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 22 o el vector de expresión de la reivindicación 23.

25. La célula hospedera aislada de la reivindicación 24, en donde la célula anfitriona es una célula de mamífero o de insecto.

26. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-21 y un portador farmacéuticamente aceptable.

27. Un sistema vector que comprende uno, dos, tres o cuatro vectores que codifican una primera, segunda, tercera, y cuarta cadenas polipeptídicas de una proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-21.

28. El sistema vector de la reivindicación 27, en donde el sistema vector comprende un primer vector que codifica la primera cadena polipeptídica de la proteína de unión, un segundo vector que codifica la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión, un tercer vector que codifica la tercera cadena polipeptídica de la proteína de unión, y un cuarto vector que codifica la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión.

29. Un kit de polinucleótidos, que comprende:

(a) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 189, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 190, un tercer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 191, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 192;

(b) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 193, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 194, un tercer polinucleótido que comprende la

secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 195, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 196;

(c) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 201, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 202, un tercer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 203, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 204;

(d) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 217, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 218, un tercer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 219, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 220;

(e) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 225, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 226, un tercer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 227, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 228;

(f) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 229, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 230, un tercer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 231, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 232; o

(g) un primer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 233, un segundo polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 234, un tercer polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 235, y un cuarto polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 236.

30. El kit de la reivindicación 29, en donde el primer, segundo, tercer, y cuarto polinucleótidos están presentes en uno, dos, tres o cuatro vectores de expresión.