

REIVINDICACIONES

1. Una proteína de unión que comprende un primer dominio de antígeno (ABD) con especificidad de unión a BCMA y un segundo ABD con especificidad de unión a NKp46, en donde:

(a) el primer ABD comprende:

(a1) un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH1) que comprende una secuencia HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFTFSNFGMH (SEQ ID NO: 1), una secuencia HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de VIWSDETNR (SEQ ID NO: 2), y una secuencia HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de DQQYCSSDSCFTWFDP (SEQ ID NO: 3); y

(a2) un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL1) que comprende una secuencia LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de CX¹SSTGX²VTPX³X⁴YAN (SEQ ID NO: 4), en donde X¹ es R o A, X² es T o A, X³ es S o G, y X⁴ es N o Y, una secuencia LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de DNNX⁵X⁶PP (SEQ ID NO: 5), en donde X⁵ es S, I o N y X⁶ es R o K, y una secuencia LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de ALX⁷X⁸GX⁹QWV (SEQ ID NO: 6), en donde X⁷ es W o Y, X⁸ es F o Y y X⁹ es N o G; y

(b) el segundo ABD comprende especificidad de unión a NKp46.

2. La proteína de unión de la reivindicación 1, en donde (b) el segundo ABD comprende:

(b1) un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH2) que comprende:

- una secuencia HCDR1 que comprende DYVIN, una secuencia HCDR2 que comprende EIYPGSGTNYNEKFKA, y una secuencia HCDR3 que comprende RGRYGLYAMDY;

- una secuencia HCDR1 que comprende GYTFSDYVIN (SEQ ID NO: 19), una secuencia HCDR2 que comprende EIYPGSGTN (SEQ ID NO: 20), y una secuencia HCDR3 que comprende RGRYGLYAMDY (SEQ ID NO: 21);

- una secuencia HCDR1 que comprende SDYAWN (SEQ ID NO: 22), una secuencia HCDR2 que comprende YITYSGSTSYNPSLES (SEQ ID NO: 23), y una secuencia HCDR3 que comprende GGYYGSSWGVFAY (SEQ ID NO: 24);

- una secuencia HCDR1 que comprende EYTMH (SEQ ID NO: 25), una secuencia HCDR2 que comprende GISPNIGGTSYNQKFKG (SEQ ID NO: 26), y una secuencia HCDR3 que comprende RGGSFDY (SEQ ID NO: 27);

- una secuencia HCDR1 que comprende SFTMH (SEQ ID NO: 28), una secuencia HCDR2 que comprende YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO: 29), y una secuencia HCDR3 que comprende GSSRGFDY (SEQ ID NO: 30); o

- una secuencia HCDR1 que comprende SDYAWN (SEQ ID NO: 31), una secuencia HCDR2 que comprende YITYSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 32), y una secuencia HCDR3 que comprende CWDYALYAMDC (SEQ ID NO: 33); y

(b2) un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL2) que comprende:

- una secuencia LCDR1 que comprende RASQDISNYLN (SEQ ID NO: 34), una secuencia LCDR2 que comprende YTSRLHS (SEQ ID NO: 35), y una secuencia LCDR3 que comprende QQGNTRPWT (SEQ ID NO: 36);

- una secuencia LCDR1 que comprende RVSENIYSYLA (SEQ ID NO: 37), una secuencia LCDR2 que comprende NAKTLAE (SEQ ID NO: 38), y una secuencia LCDR3 que comprende QHHYGTPWT (SEQ ID NO: 39);

- una secuencia LCDR1 que comprende RASQSISDY LH (SEQ ID NO: 40), una secuencia LCDR2 que comprende YASQ SIS (SEQ ID NO: 41), y una secuencia LCDR3 que comprende QNGHSFPLT (SEQ ID NO: 42);

- una secuencia LCDR1 que comprende RASENIYSNLA (SEQ ID NO: 43), una secuencia LCDR2 que comprende AATNLAD (SEQ ID NO: 44), y una secuencia LCDR3 que comprende QHFWGTPRT (SEQ ID NO: 45); o

- una secuencia LCDR1 que comprende RTSENIYSYLA (SEQ ID NO: 46), una secuencia LCDR2 que comprende NAKTLAE (SEQ ID NO: 47), y una secuencia LCDR3 que comprende QHHYDTPLT (SEQ ID NO: 48).

3. La proteína de unión de la reivindicación 1, en donde el VL1 comprende:

- una secuencia LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de CASSTGTVTPSNYAN (SEQ ID NO: 7), una secuencia LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de DNNSRPP (SEQ ID NO: 8), y una secuencia LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de ALWFGNQWV (SEQ ID NO: 9);

- una secuencia LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de CRSSTGTVTPSNYAN (SEQ ID NO: 10), una secuencia LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de DNNSRPP (SEQ ID NO: 11), y una secuencia LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de ALWFGNQWV (SEQ ID NO: 12);

- una secuencia LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de CASSTGAVTPSNYAN (SEQ ID NO: 13), una secuencia LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de DNNIKPP (SEQ ID NO: 14), y una secuencia LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de ALWYGGQWV (SEQ ID NO: 15); o

- una secuencia LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de CASSTGAVTPGYAN (SEQ ID NO: 16), una secuencia LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de DNNKPP (SEQ ID NO: 17), y una secuencia LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de ALYGGQWV (SEQ ID NO: 18).

4. La proteína de unión de la reivindicación 1 o 2, en donde:

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una

secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; o

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54,

opcionalmente, en donde:

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52;

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; o

- el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54.

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

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, y en donde el VL2 comprende una

secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; o

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71,

opcionalmente, en donde:

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69;

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; o

- el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71.

6. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende además la totalidad o parte de un dominio Fc de inmunoglobulina o una variante del mismo, opcionalmente, en donde:

la totalidad o parte del dominio Fc de inmunoglobulina o una variante del mismo se une a un receptor Fc-γ humano;

la totalidad o parte del dominio Fc de inmunoglobulina o una variante del mismo se une a un polipéptido CD16A (FcγRIII) humano;

el dominio Fc comprende un glucano natural en la posición aminoacídica 297, de acuerdo con la numeración EU; y/o

la proteína de unión está N-glucosilada.

7. La proteína de unión de la reivindicación 6, en donde el dominio Fc o una variante del mismo comprende una primera cadena pesada Fc y una segunda cadena pesada Fc.

8. La proteína de unión de la reivindicación 7, en donde al menos una cadena pesada Fc comprende un enlace disulfuro intracatenario genomanipulado mediado por un par de cisteínas (C) que sustituyen a:

(i) una leucina (L) en la posición aminoacídica 242 y una lisina (K) en la posición aminoacídica 334;

o

(iii) una arginina (R) en la posición aminoacídica 292 y una valina (V) en la posición aminoacídica 302;

en donde las posiciones aminoacídicas son de acuerdo con la numeración EU.

9. La proteína de unión de la reivindicación 8, en donde la primera y la segunda cadenas pesadas Fc comprenden cada una las sustituciones L242C/K334C.

10. La proteína de unión de la reivindicación 8, en donde la primera y la segunda cadenas pesadas Fc comprenden cada una las sustituciones R292C/V302C.

11. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 7-10, en donde al menos una cadena pesada Fc comprende una sustitución en la posición aminoacídica 332, de acuerdo con la numeración EU, opcionalmente, en donde la sustitución en la posición aminoacídica

332 es un ácido glutámico (E), que comprende, opcionalmente, además al menos una cadena pesada Fc comprende además una o más sustituciones en las posiciones aminoacídicas 236, 239 o 330, de acuerdo con la numeración EU, opcionalmente, en donde la sustitución en la posición aminoacídica 236 es una alanina (A), la sustitución en la posición aminoacídica 239 es un ácido aspártico (D), y la sustitución en la posición aminoacídica 330 es una leucina (L).

12. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 7-11, en donde:

al menos una cadena pesada Fc comprende además un ácido aspártico (D) en la posición aminoacídica 239, y un ácido glutámico (E) en la posición aminoacídica 332, de acuerdo con la numeración EU;

al menos una cadena pesada Fc comprende además una alanina (A) en la posición aminoacídica 236, un ácido aspártico (D) en la posición aminoacídica 239, y un ácido glutámico (E) en la posición aminoacídica 332, de acuerdo con la numeración EU; o

al menos una cadena pesada Fc comprende además una alanina (A) en la posición aminoacídica 236, un ácido aspártico (D) en la posición aminoacídica 239, una leucina (L) en la posición aminoacídica 330, y un ácido glutámico (E) en la posición aminoacídica 332, de acuerdo con la numeración EU.

13. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, que comprende al menos dos cadenas polipeptídicas que forman al menos dos sitios de unión a antígeno, en donde al menos una cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

VL1-L1-VL2-L2-CL [I];

y al menos una cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

VH2-L3-VH1-L4-CH1 [II];

en donde:

CL es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

CH1 es un dominio constante de cadena pesada CH1 de inmunoglobulina; y

L1, L2, L3 y L4 son enlazadores de aminoácidos, en donde uno cualquiera o más de L1, L2, L3 y L4 están opcionalmente ausentes, y

en donde los polipéptidos de fórmula I y los polipéptidos de fórmula II forman un par cadena pesada-cadena ligera entrecruzado,

opcionalmente, en donde la proteína de unión comprende tres cadenas polipeptídicas que forman dos sitios de unión a antígeno, en donde una cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

VL1-L1-VL2-L2-CL [I];

una cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

VH2-L3-VH1-L4-CH1-bisagra-CH2-CH3 [III]; y

una cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

bisagra-CH2-CH3 [IV]

en donde:

CL es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

CH1 es un dominio constante de cadena pesada CH1 de inmunoglobulina;

CH2 es un dominio constante de cadena pesada CH2 de inmunoglobulina;

CH3 es un dominio constante de cadena pesada CH3 de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios CH1 y CH2;

y

L1, L2, L3 y L4 son enlazadores de aminoácidos, en donde uno cualquiera o más de L1, L2, L3 y L4 están opcionalmente ausentes, y

en donde los polipéptidos de fórmula I y los polipéptidos de fórmula II forman un par cadena pesada-cadena ligera entrecruzado.

14. La proteína de unión de la reivindicación 13, en donde:

(a) L1, L2, L3 y L4 tienen cada uno independientemente cero aminoácidos de longitud o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGSGGGGS, GGGSGGGSGGGGS, S, RT, TKGPS, GQPKAAP y GSGSSGSGG; o

(b) L1, L2, L3 y L4 comprenden cada uno independientemente una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGSGGGGS, GGGSGGGSGGGGS, S, RT, TKGPS, GQPKAAP y GSGSSGSGG.

15. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, que comprende:

(i) una primera cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72;

(ii) una segunda cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y

(iii) una tercera cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

16. Una proteína de unión que comprende un primer dominio de antígeno (ABD) con especificidad de unión a BCMA y un segundo ABD con especificidad de unión a Nkp46, en donde:

(a) el primer ABD comprende un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH1) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL1) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55; y

(b) el segundo ABD comprende un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH2) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, y un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL2) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64, opcionalmente, en donde:

el VH1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y en donde el VL1 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55; y

el VH2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, y en donde el VL2 comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64.

17. La proteína de unión de la reivindicación 16, que comprende:

(i) una primera cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72;

(ii) una segunda cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y

(iii) una tercera cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

18. Una proteína de unión que comprende un primer dominio de antígeno (ABD) con especificidad de unión a BCMA y un segundo ABD con especificidad de unión a NKp46, en donde la proteína de unión comprende:

(i) una primera cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72;

(ii) una segunda cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y

(iii) una tercera cadena polipeptídica que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74.

19. La proteína de unión de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso como un medicamento.

20. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en un método para el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno.

21. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en un método para el tratamiento o prevención de un cáncer.

22. La proteína de unión de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en un método para el tratamiento o prevención del mieloma múltiple.

23. Una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18.

24. Una molécula de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de unión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18.

25. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 24.

26. Una célula aislada que comprende la molécula de ácido nucleico de la reivindicación 24.

27. Una célula aislada que comprende el vector de expresión de la reivindicación 25.

28. La célula aislada de la reivindicación 27, en donde la célula es una célula de mamífero.

29. Un método para elaborar la proteína de unión de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, que comprende cultivar la célula aislada de la reivindicación 26 o 27 en condiciones adecuadas y recuperar la proteína de unión.

30. Un método para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite la composición farmacéutica de la reivindicación 23.

31. Un método para tratar o prevenir un cáncer, comprendiendo el método administrar al sujeto que lo necesite la composición farmacéutica de la reivindicación 23.

32. Un método para tratar o prevenir el mieloma múltiple, comprendiendo el método administrar al sujeto que lo necesite la composición farmacéutica de la reivindicación 23.

33. Un método para restaurar o potenciar la actividad de células que expresan NKp46 en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente la composición farmacéutica de la reivindicación 23.

34. Un método para eliminar células neoplásicas en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente la composición farmacéutica de la reivindicación 23.

35. Un método para desencadenar o aumentar la lisis mediada por linfocitos NK de células neoplásicas en un paciente que lo necesite, que comprende administrar al paciente la composición farmacéutica de la reivindicación 23.