

CONJUGADO ANTICUERPO-FÁRMACO QUE SE UNE A HER3

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de y la prioridad sobre la Solicitud de patente provisional de EE. UU. núm. 63/436,730, presentada el 3 de enero de 2023, y la Solicitud de patente provisional de EE. UU. núm. 63/459,061, presentada el 13 de abril de 2023, cuyos contenidos se incorporan en la presente descripción por referencia en su totalidad.

Listado de secuencias

Esta solicitud contiene un listado de secuencias con el nombre de archivo 1959576-00081_Sequence_Listing.xml, que tiene un tamaño de 107 KB y se creó el 19 de diciembre de 2023. Todo el contenido de este Listado de Secuencias se incorpora a la presente mediante esta referencia.

Campo Técnico

La presente divulgación se refiere a la biología molecular, más específicamente a la tecnología de anticuerpos. La presente divulgación también se refiere a métodos de tratamiento médico y profilaxis.

Antecedentes

Los cánceres siguen siendo la causa principal de muerte a nivel mundial. Las quimioterapias tienen buenos beneficios clínicos, pero debido a su baja especificidad tienen efectos secundarios muy significativos y bajos índices terapéuticos. Las terapias más dirigidas, como las terapias con anticuerpos monoclonales, muestran una buena especificidad, pero las tasas de respuesta son menores. Los conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) son una modalidad terapéutica que aprovecha la especificidad del objetivo de un anticuerpo para administrar selectivamente cargas citotóxicas a los tumores y están demostrando ser cada vez más eficaces en la clínica. El HER3 pertenece a la familia de receptores de tirosina quinasa del receptor del factor de crecimiento epidérmico (ERBB), y se sobreexpresa en una amplia gama de tumores. Se asocia con la progresión de la enfermedad y una baja tasa de supervivencia. Por ejemplo, más del 50 % de los tumores presentan sobreexpresión de HER3 en melanoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón, cáncer gástrico, cáncer colorrectal y cáncer de ovario, mientras que, en cáncer de mama, cáncer de páncreas y cáncer de próstata la sobreexpresión osciló entre el 25 % y el 40 % de los tumores. Además, estudios recientes han demostrado que la expresión de HER3 se induce significativamente en los tumores durante la metástasis en los cánceres colorrectales y durante la resistencia adquirida al estándar de atención en los cánceres de pulmón.

Patritumab-Deruxtecan (U3-1402; también denominado en este documento Patritumab-DXd) es un ADC dirigido a HER3 para el cual se han observado respuestas clínicas en un subconjunto de cánceres de pulmón resistentes a TKI y mutantes de EGFR, y cánceres de mama metastásicos (Jänne et ál., *Cancer Discov.* (2022) 12(1):74-89; Krop et ál., *J Clin Oncol* (2022) 40 (suppl 16): abstr 1002). Sin embargo, se han observado toxicidades que incluyen enfermedad pulmonar intersticial grave (EPI) y citopenia de alto grado (Kogawa et ál., *Journal of Clinical Oncology* (2018) 36(15, suppl): 2512-2512).

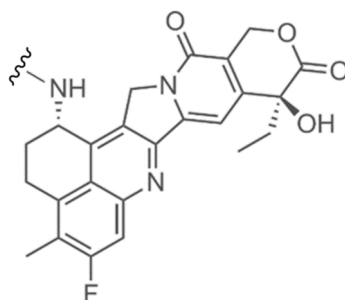
Compendio

En un primer aspecto, la presente divulgación proporciona una molécula de unión a antígeno que se une a HER3, que comprende (i) una fracción de unión a HER3, y (ii) una fracción de carga útil del enlazador que comprende exatecan o un derivado de este.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende la

estructura (A):

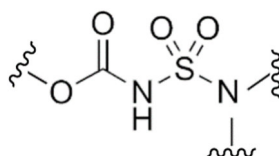
(A)



En algunas modalidades, la porción de carga útil del enlazador y la porción de unión a HER3 están conectadas a través de una porción de enlazador escindible.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende una fracción enlazadora escindible que comprende la estructura (B):

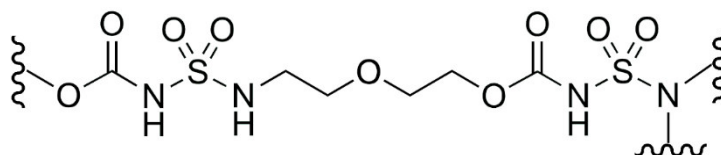
(B)



En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende una fracción enlazadora escindible que comprende una fracción de polietilenglicol (PEG).

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende una fracción enlazadora escindible que comprende la estructura (C):

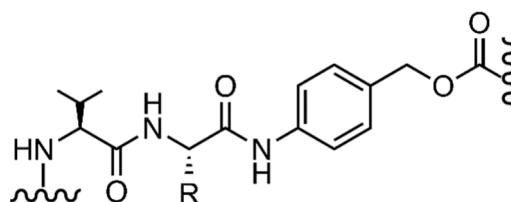
(C)



En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende una fracción enlazadora escindible que comprende un grupo carbamato de p-aminobencilo (PABC).

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende una fracción enlazadora escindible que comprende la estructura (D):

(D)

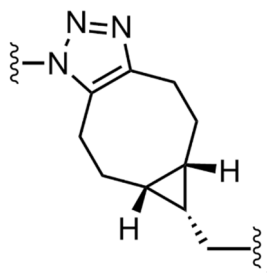


donde R se selecciona entre CH_3 y $(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCNH}_2$.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende la estructura

(E):

(E)



En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende SYNtecan E. En algunas modalidades, la porción de unión a HER3 comprende una región Fc, y donde la porción de carga útil del enlazador está conjugada con la porción de unión a HER3 en un grupo azido proporcionado en un residuo de 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina de un N-glicano unido a N297 de un dominio CH2 de la región Fc (numeración UE).

En algunas modalidades, la fracción de unión a HER3 se une a HER3 en la región que se muestra en SEQ ID NO: 77.

En algunas modalidades, la fracción de unión a HER3 comprende:

(i) una región variable de cadena pesada (VH) que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40

HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43

HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48; y

(ii) una región variable de cadena ligera (VL) que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66

LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69

LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74

En algunas modalidades, la fracción de unión a HER3 comprende:

(i) una región VH que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38

HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42

HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45; y

(ii) una región VL que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63

LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67

LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno que se une a HER3 comprende:

una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33;

y

una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno que se une a HER3 comprende:

un polipéptido que comprende, o consiste en, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; y

un polipéptido que comprende, o consiste en, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

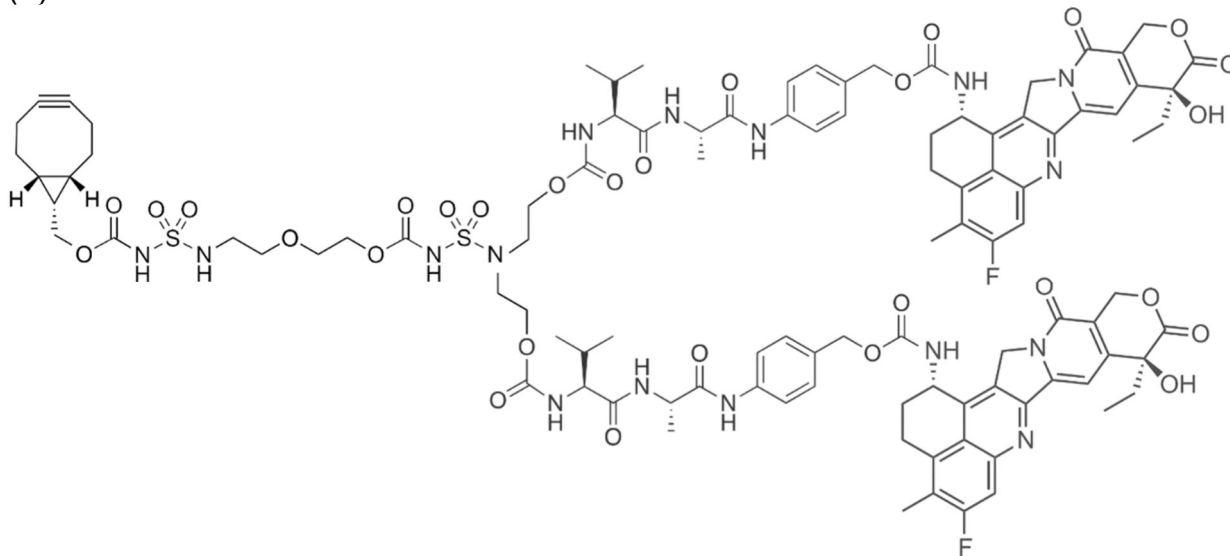
En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno que se une a HER3 comprende:

un polipéptido que comprende, o consiste en, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, 81, 82 o 91; y

un polipéptido que comprende, o consiste en, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

La presente divulgación también proporciona un método para producir una molécula de unión a antígeno, que comprende poner en contacto una fracción de unión a HER3 que comprende una fracción azido con un compuesto que tiene la estructura (F):

(F)



La presente divulgación también proporciona una molécula de unión a antígeno obtenida u obtenible mediante el método de la presente divulgación.

La presente divulgación también proporciona una composición que comprende una molécula de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación, y un portador, diluyente, excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

La presente divulgación también proporciona una molécula o composición de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación, para su uso en un método de tratamiento médico o profilaxis, o en un método de diagnóstico o pronóstico.

La presente divulgación también proporciona una molécula o composición de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación, para su uso en el tratamiento o prevención de un cáncer.

La presente divulgación también proporciona el uso de una molécula o composición de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de un cáncer.

La presente divulgación también proporciona un método para tratar o prevenir un cáncer, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de una molécula o composición de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación.

En algunas modalidades, el cáncer se selecciona de: un cáncer que comprende células que expresan/sobreexpresan un miembro de la familia EGFR, un cáncer que comprende células que expresan/sobreexpresan HER3, un cáncer que comprende células que tienen una mutación que resulta en una mayor expresión de un ligando para HER3, un cáncer que comprende células que tienen una fusión del gen NRG, un tumor sólido, un cáncer hematológico, un cáncer de células escamosas, cáncer de

mama, carcinoma de mama, carcinoma invasivo de mama, carcinoma ductal, cáncer de mama metastásico, cáncer de mama triple negativo, cáncer de mama HER2 positivo, cáncer de mama HER2 negativo, cáncer de mama con receptor hormonal positivo, cáncer de mama HER2 negativo/receptor hormonal positivo, cáncer gástrico, carcinoma gástrico, adenocarcinoma gástrico, adenocarcinoma gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer colorrectal metastásico, cáncer de colon, carcinoma colorrectal, adenocarcinoma colorrectal, adenocarcinoma de colon, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC), cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma de pulmón mucinoso invasivo, carcinoma de células escamosas de pulmón (LUSC), cáncer de ovario, carcinoma de ovario, adenocarcinoma seroso de ovario, cistadenocarcinoma seroso de ovario, cáncer de trompas de Falopio, cáncer renal, carcinoma de células renales, carcinoma renal de células claras, adenocarcinoma de células renales, carcinoma renal de células papilares, cáncer de páncreas, adenocarcinoma pancreático, adenocarcinoma ductal pancreático, cáncer de cuello uterino, carcinoma de células escamosas de cuello uterino, cáncer de piel, melanoma, cáncer de cavidad oral, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), adenocarcinoma de esófago, cáncer de hígado, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de útero, cáncer de endometrio, carcinoma endometrial del cuerpo uterino, carcinosarcoma uterino, cáncer de tiroides, carcinoma de tiroides, feocromocitoma, paraganglioma, cáncer de vejiga, carcinoma urotelial de vejiga, cáncer de próstata, adenocarcinoma de próstata, cáncer de próstata resistente a la castración, cáncer de próstata metastásico, cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, retinoblastoma, sarcoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer peritoneal, timoma, tumor neuroendocrino, tumor neuroendocrino de la nasofaringe y cáncer por deficiencia de recombinación homóloga (HRD).

La presente divulgación también proporciona el uso de una molécula o composición de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación para agotar o aumentar la muerte de células que expresan HER3.

La presente divulgación también proporciona un complejo in vitro, opcionalmente aislado, que comprende una molécula de unión a antígeno según la presente divulgación unida a HER3.

La presente divulgación también proporciona un método para detectar HER3 en una muestra, que comprende poner en contacto una muestra que contiene, o se sospecha que contiene, HER3 con una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación, y detectar la formación de un complejo de la molécula de unión al antígeno con HER3.

La presente divulgación también proporciona un método para seleccionar o estratificar un sujeto para el tratamiento con un agente dirigido a HER3, donde el método comprende poner en contacto, in vitro, una muestra del sujeto con una molécula de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación, y detectar la formación de un complejo de la molécula de unión a antígeno con HER3.

La presente divulgación también proporciona el uso de una molécula de unión a antígeno de acuerdo con la presente divulgación como agente de diagnóstico o pronóstico in vitro o in vivo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

A continuación, se analizarán modalidades y experimentos que ilustran los principios de la presente divulgación con referencia a las figuras adjuntas.

Figuras 1A a 1F. Gráficos y tabla que muestran la unión de moléculas de unión a

HER3 a células de diferentes líneas celulares de cáncer humano. (1A) a (1E) muestran la unión de diferentes moléculas a (1A) células HCT116 (1B) células DU145 (1C) células H358, (1D) células T47D y (1E) células OVCAR8. (1F) Tabla que muestra los valores de EC_{50} para la unión de las moléculas de unión a HER3 indicadas a los tipos de células indicados, tal como se derivan de las curvas de unión.

Figuras 2A a 2D. Gráficos que muestran la unión de moléculas de unión a HER3 a células de diferentes líneas celulares de cáncer humano, en presencia de concentraciones crecientes de NRG1. El eje y muestra el cambio relativo de la intensidad de fluorescencia media (MFI) en comparación con las células no tratadas con NRG1. (2A) a (2D) muestran la unión de diferentes moléculas a (2A) células OVCAR8 (2B) células T47D (2C) células H358 y (2D) células DU145.

Figuras 3A y 3B. Gráficos y tabla que muestran la unión de las moléculas de unión a HER3 a los receptores Fc γ , según lo determinado por el análisis de resonancia de plasmones superficiales. (3A) muestra la unión de un control positivo de isotipo coincidente de IgG1 humana (control de IgG1), IgG1 humana que comprende mutaciones de silenciamiento de Fc (Fc silenciado), Patritumab-DXd, 501b.S8D4 y 501c.S8D4 a FC γ RIA humano (CD64), FC γ RIIA humano (CD32a) y FC γ RIIIA humano (CD16a). El eje y muestra las unidades de resonancia relativa (RU), que son directamente proporcionales a la unión de las moléculas a los receptores Fc γ probados, y el eje x muestra la concentración creciente de la molécula de prueba relevante. (3B) Tabla que muestra los valores de las constantes cinéticas de unión y las afinidades calculadas derivadas de los datos de unión.

Figuras 4A y 4B. Gráficos y tablas que muestran la inhibición de la proliferación de diferentes líneas celulares de cáncer humano que tienen distintos niveles de expresión basal de HER3 por moléculas de unión a HER3. (4A) y (4B) muestran la inhibición de la proliferación de (4A) células T47D y (4B) células HCT116. Los valores de IC_{50} para cada uno de los artículos de prueba se proporcionan en las tablas debajo del gráfico respectivo, cuando corresponda (los valores de IC_{50} no podrían ser células HCT116).

Figuras 5A y 5B. Gráficos y tablas que muestran la inhibición de la proliferación de células T47D por moléculas de unión a HER3, en presencia de NRG1. (5A) y (5B) muestran la inhibición de la proliferación de células T47D en presencia de las moléculas indicadas, en ausencia o presencia de NRG1 (100 ng/ml). Los valores IC_{50} para cada uno de los artículos de prueba se proporcionan en las tablas debajo de los respectivos gráficos.

Figura 6. Gráfico que muestra el porcentaje de especies que tienen una relación fármaco-anticuerpo de 4 (DAR4) después de la incubación de las moléculas de unión a HER3 indicadas en suero de ratón a 37 °C durante la cantidad de días indicada.

Figura 7. Se muestra un gráfico que muestra la inhibición del crecimiento tumoral de ratones en un modelo de xenoinjerto derivado de células H358, después del tratamiento con moléculas de unión a HER3 o el control del vehículo. El volumen del tumor a lo largo del tiempo se muestra en el gráfico.

Figuras 8A y 8B. Gráficos que muestran la inhibición del crecimiento tumoral de ratones en un modelo de xenoinjerto derivado de células T47D, después del tratamiento con diferentes dosis de moléculas de unión a HER3 o el control del vehículo. (8A) y (8B) muestran el volumen del tumor a lo largo del tiempo.

Figuras 9A a 9F. Gráficos de barras que muestran los niveles de los índices de glóbulos rojos y los parámetros anémicos en muestras de sangre tomadas de ratas después de la administración de las moléculas indicadas. (9A) muestra el recuento de glóbulos rojos, (9B) muestra la concentración de hemoglobina, (9C) muestra el porcentaje de hematocrito, (9D) muestra el volumen corpuscular medio (VCM), (9E)

muestra el volumen de hemoglobina corpuscular media (CHM) y (9F) muestra la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Las líneas de puntos indican el rango normal de referencia de estos índices en ratas hembras sanas según lo publicado por Charles River (Datos de patología clínica para colonias de ratas CD® de América del Norte de enero de 2006 a diciembre de 2011).

Figuras 10A a 10E. Gráficos de barras que muestran los niveles de los índices de glóbulos blancos y plaquetas en muestras de sangre tomadas de ratas después de la administración de las moléculas indicadas, 3 días después de la dosis 1 (día 4) y 3 días después de la dosis 2 (día 11). (10A) muestra el recuento de glóbulos blancos, (10B) muestra el recuento de linfocitos, (10C) muestra el recuento de monocitos, (10D) muestra el recuento de neutrófilos y (10E) muestra el recuento de plaquetas. Las líneas de puntos indican el rango normal de referencia de estos índices en ratas hembras sanas según lo publicado por Charles River (Datos de patología clínica para colonias de ratas CD® de América del Norte de enero de 2006 a diciembre de 2011).

Figuras 11A a 11F. Gráficos de barras que muestran los niveles de los índices de hígado, riñón y páncreas en muestras de sangre tomadas de ratas después de la administración de las moléculas indicadas, a los 3 días después de la dosis 1 (día 4) y 3 días después de la dosis 2 (día 11). (11A) muestra el nivel de alanina aminotransferasa (ALT), (11B) muestra el nivel de aspartato aminotransferasa (AST), (11C) muestra el nivel de albúmina, (11D) muestra el nivel de proteína total, (11E) muestra el nivel de creatinina y (11F) muestra el nivel de glucosa. Las líneas de puntos indican el rango normal de referencia de estos índices en ratas hembras sanas según lo publicado por Charles River (Datos de patología clínica para colonias de ratas CD® de América del Norte de enero de 2006 a diciembre de 2011).

Figuras 12A a 12D. Gráficos de barras que muestran los niveles de electrolitos en muestras de sangre tomadas de ratas después de la administración de las moléculas indicadas, 3 días después de la dosis 1 (día 4) y 3 días después de la dosis 2 (día 11). (12A) muestra el nivel de sodio, (12B) muestra el nivel de potasio, (12C) el nivel de fosfato, (12D) muestra el nivel de calcio. Las líneas de puntos indican el rango normal de referencia de estos índices en ratas hembras sanas según lo publicado por Charles River (Datos de patología clínica para colonias de ratas CD® de América del Norte de enero de 2006 a diciembre de 2011).

Figura 13. Imágenes de fluorescencia de 501c.S8D4 marcado con APC incubado con células T47D a 37 °C durante 0,5, 4 y 16 h para medir la internalización y el tráfico a los lisosomas. Las células incubadas a 4 °C durante 1 hora proporcionaron un control negativo.

Figura 14. Gráfico que muestra la internalización de 501c.S8D4 marcado con Fab-flúor en los lisosomas de células T47D utilizando imágenes de células vivas.

Figura 15. Gráfico que muestra la captación dependiente de macropinocitosis de 501c.S8D4 marcado con Fab-flúor o patritumab-DXd por megacariocitos humanos. Valores p, *** < 0,001.

Figura 16. Gráfico que muestra la unión mediada por Fc de IgG-DXd (control positivo), 501c.S8D4 o patritumab-DXd a PBMC humanas en concentraciones de 30 µg/ml, 10 µg/ml o 3 µg/ml. Valores p, ** < 0,01, *** < 0,001.

Descripción

La presente divulgación se refiere a moléculas de unión a antígeno que comprenden una fracción de unión a HER3 y una fracción de carga útil de exatecan.

En los ejemplos experimentales de la presente divulgación, los inventores demuestran que dichas moléculas de unión a antígeno están provistas de propiedades inesperadas y ventajosas en relación con los conjugados de fármaco-anticuerpo anti-

HER3 conocidos.

En particular, se demuestra aquí que las moléculas de unión a antígeno de la presente divulgación tienen una actividad anticancerígena similar o mejorada *in vitro* e *in vivo* en comparación con el conjugado fármaco-anticuerpo anti-HER3 conocido Patritumab-DXd, mientras que tienen un perfil toxicológico mucho más favorable.

La actividad anticancerígena similar/mejorada sobre Patritumab-DXd es especialmente inesperada debido a que las moléculas de unión al antígeno de la divulgación tienen una relación fármaco-anticuerpo (DAR) media de 4, mientras que la DAR media para Patritumab-DXd es 8.

Fracciones de unión a antígenos

Una «molécula de unión a antígeno» se refiere a una molécula que se une a un antígeno objetivo determinado. Las moléculas de unión al antígeno comprenden una fracción de unión al antígeno a través de la cual la molécula de unión al antígeno se une a su antígeno objetivo. Las moléculas de unión a antígeno de la presente divulgación comprenden una fracción de unión a antígeno que se une a HER3 (es decir, una fracción de unión a HER3).

Las fracciones de unión a antígeno pueden comprender, o pueden derivarse de, anticuerpos (es decir, inmunoglobulinas (Igs)) y fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos. Tal como se utiliza en la presente, el término «anticuerpos» incluye anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoespecíficos y multiespecíficos (p. ej., biespecíficos, triespecíficos, etc.) y moléculas de unión a antígeno derivadas de anticuerpos, como scFv, scFab, diacuerpos, triacuerpos, scFv-Fc, minicuerpos, anticuerpos de dominio único (p. ej., VhH, etc.). Los fragmentos de unión al antígeno de anticuerpos incluyen por ejemplo Fragmentos Fv, Fab, F(ab')₂ y F(ab').

Las fracciones de unión a antígeno también incluyen aptámeros de unión a antígeno objetivo, por ejemplo, aptámeros de ácido nucleico (revisados, por ejemplo, en Zhou y Rossi, *Nat Rev Drug Discov.* (2017) 16(3):181-202). En algunas modalidades, una fracción de unión a antígeno comprende o consiste en un péptido/polipéptido de unión a antígeno, p. ej., un aptámero peptídico, tiorredoxina, monocuerpo, anticalina, dominio Kunitz, avímero, knottina, finómero, atrímero, DARPin, aficuerpo, nanocuerpo (es decir, un anticuerpo de dominio único (sdAb)), afilina, proteína de repetición de armadillo (ArmRP), OBody o fibronectina, revisado, p. ej., en Reverdatto et ál., *Curr Top Med Chem.* 2015; 15(12): 1082–1101, que se incorpora mediante referencia en su totalidad (véase también, p. ej., Boersma et ál., *J Biol Chem* (2011) 286:41273-85 y Emanuel et ál., *Mabs* (2011) 3:38-48).

En algunas modalidades, una fracción de unión a antígeno comprende, o consiste en, la región de unión a antígeno de un anticuerpo (por ejemplo, un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo). Las fracciones de unión a antígeno de las moléculas de unión a antígeno de la presente divulgación comprenden preferiblemente la región variable de la cadena pesada del anticuerpo (VH) y la región variable de la cadena ligera del anticuerpo (VL) de un anticuerpo que se une al antígeno objetivo. El dominio de unión al antígeno formado por un VH y un VL también puede denominarse en este documento región Fv.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es o comprende el Fv (por ejemplo, proporcionado como un scFv) de un anticuerpo. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es o comprende la región Fab de un anticuerpo. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es o comprende el anticuerpo completo (es decir, comprende regiones variables y constantes).

Una fracción de unión a antígeno puede ser, o puede comprender, un polipéptido de

unión a antígeno o un complejo de polipéptido de unión a antígeno. Una fracción de unión a antígeno puede comprender más de un polipéptido que juntos forman una fracción de unión a antígeno. Los polipéptidos pueden asociarse covalentemente o no covalentemente. En algunas modalidades, los polipéptidos forman parte de un polipéptido más grande que comprende los polipéptidos (por ejemplo, en el caso de scFv que comprende VH y VL, o en el caso de scFab que comprende VH-CH1 y VL-CL).

Una fracción de unión a antígeno puede referirse a un complejo covalente o no covalente de más de un polipéptido (por ejemplo, 2, 3, 4, 6 u 8 polipéptidos), por ejemplo, una molécula de unión a antígeno similar a IgG que comprende dos polipéptidos de cadena pesada y dos polipéptidos de cadena ligera.

Las fracciones de unión a antígeno de la presente divulgación pueden diseñarse y prepararse utilizando las secuencias de anticuerpos monoclonales (mAb) capaces de unirse a un antígeno objetivo determinado (por ejemplo, HER3). También se pueden utilizar/proporcionar regiones de unión a antígenos de anticuerpos, como fragmentos variables de cadena simple (scFv) y fragmentos Fab y F(ab')₂. Una «región de unión a antígeno» es cualquier fragmento de un anticuerpo que se une al objetivo para el cual el anticuerpo dado es específico.

Los anticuerpos generalmente comprenden seis regiones determinantes de complementariedad (CDR): tres en la región variable de la cadena pesada (VH): HC-CDR1, HC-CDR2 y HC-CDR3, y tres en la región variable de la cadena ligera (VL): LC-CDR1, LC-CDR2 y LC-CDR3. Las seis CDR juntas definen el paratopo del anticuerpo, que es la parte del anticuerpo que se une al antígeno objetivo.

La región VH y la región VL comprenden regiones marco (FR) a cada lado de cada CDR, que proporcionan un andamiaje para las CDR. Desde el extremo N al extremo C, las regiones VH comprenden la siguiente estructura: término N-[HC-FR1]-[HC-CDR1]-[HC-FR2]-[HC-CDR2]-[HC-FR3]-[HC-CDR3]-[HC-FR4]-término C; y las regiones VL comprenden la siguiente estructura: término N-[LC-FR1]-[LC-CDR1]-[LC-FR2]-[LC-CDR2]-[LC-FR3]-[LC-CDR3]-[LC-FR4]-término C.

Hay varias convenciones diferentes para definir CDR y FR de anticuerpos, como las descritas en Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), Chothia et ál., *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987), y VBASE2, como se describe en Retter et ál., *Nucl. Acids Res.* (2005) 33 (suppl 1): D671-D674. Las CDR y FR de las regiones VH y VL de los clones de anticuerpos descritos en este documento se definieron de acuerdo con el sistema de información internacional IMGT (ImMunoGeneTics) (LeFranc et ál., *Nucleic Acids Res.* (2015) 43 (número de base de datos): D413-22), que utiliza las reglas de numeración IMGT V-DOMAIN como se describe en Lefranc et ál., *Dev. Comp. Immunol.* (2003) 27:55-77. En modalidades preferidas, las CDR y FR de las moléculas de unión a antígeno a las que se hace referencia en este documento se definen de acuerdo con el sistema de información IMGT.

En algunas modalidades, una molécula de unión a antígeno según la presente divulgación comprende, o consiste en, una región Fv que se une a HER3. En algunas modalidades, las regiones VH y VL del Fv se proporcionan como un único polipéptido unido por una secuencia enlazadora, es decir, un Fv de cadena única (scFv).

La región VL y la región constante de cadena ligera (CL), y la región VH y la región constante de cadena pesada 1 (CH1) de una región de unión a antígeno de un anticuerpo constituyen juntas la región Fab. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende una región Fab que comprende un VH, un CH1, un VL y un CL (por ejemplo, C_k o C_λ). En algunas modalidades, la región Fab comprende

un polipéptido que comprende un VH y un CH1 (por ejemplo, un polipéptido de fusión VH-CH1), y un polipéptido que comprende un VL y un CL (por ejemplo, un polipéptido de fusión VL-CL). En algunas modalidades, la región Fab comprende un polipéptido que comprende una VH y una CL (por ejemplo, un polipéptido de fusión VH-CL) y un polipéptido que comprende una VL y una CH1 (por ejemplo, un polipéptido de fusión VL-CH1); es decir, en algunas modalidades, la región Fab es una región CrossFab. En algunas modalidades, las regiones VH, CH1, VL y CL del Fab o CrossFab se proporcionan como un polipéptido único unido por regiones de enlace, es decir, como un Fab de cadena única (scFab) o un CrossFab de cadena única (scCrossFab).

En algunas modalidades, una molécula de unión a antígeno descrita en este documento comprende, o consiste en, un anticuerpo completo que se une a HER3. Tal como se utiliza en este documento, «anticuerpo completo» se refiere a un anticuerpo que tiene una estructura que es sustancialmente similar a la estructura de una inmunoglobulina (Ig). Se describen diferentes tipos de inmunoglobulinas y sus estructuras, por ejemplo, en Schroeder y Cavacini *J Allergy Clin Immunol.* (2010) 125(202): S41-S52, que se incorpora al presente documento mediante referencia en su totalidad.

Las inmunoglobulinas de tipo G (es decir IgG) son glicoproteínas de ~150 kDa que comprenden dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Desde el extremo N al C, las cadenas pesadas comprenden una VH seguida de una región constante de cadena pesada que comprende tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3), y de manera similar, las cadenas ligeras comprenden una VL seguida de una CL. Dependiendo de la cadena pesada, las inmunoglobulinas pueden clasificarse como IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (p. ej. IgA1, IgA2), IgD, IgE o IgM. La cadena ligera puede ser kappa (κ) o lambda (λ).

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno comprende, o consiste en, una IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (p. ej. IgA1, IgA2), IgD, IgE o IgM que se une a HER3.

En algunas modalidades descritas en este documento, uno o más aminoácidos de una secuencia de aminoácidos a la que se hace referencia en este documento (por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de una molécula de unión a antígeno, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos de una región CDR o VH/VL) se sustituyen por otro aminoácido. Una sustitución comprende la sustitución de un residuo de aminoácido por un residuo de aminoácido de «reemplazo» no idéntico. Un residuo de aminoácido de reemplazo de una sustitución de acuerdo con la presente divulgación puede ser un residuo de aminoácido de origen natural (es decir, codificado por el código genético) que no es idéntico al residuo de aminoácido en la posición relevante de la secuencia de aminoácidos no sustituida equivalente, seleccionada de: alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), glutamina (Gln), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile): leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val). En algunas modalidades, un aminoácido de reemplazo puede ser un residuo de aminoácido que no se produce de forma natural, es decir, un residuo de aminoácido distinto de los mencionados en la oración anterior. Los ejemplos de residuos de aminoácidos de origen no natural incluyen norleucina, ornitina, norvalina, homoserina, aib y otros análogos de residuos de aminoácidos como los que se describen en Ellman et ál., *Meth. Enzym.* 202 (1991) 301-336.

En algunas modalidades, una sustitución puede ser bioquímicamente conservadora. En algunas modalidades, cuando se proporciona un aminoácido que se va a sustituir

en una de las filas 1 a 5 de la tabla a continuación, el aminoácido de reemplazo de la sustitución es otro aminoácido no idéntico proporcionado en la misma fila:

Fila	Propiedad compartida	Aminoácidos
1	Hidrofóbico	Met, Ala, Val, Leu, Ile, Trp, Tyr, Phe, Norleucina
2	Hidrófilo neutro	Cys, Ser, Thr, Asn, Gln
3	Ácido o con carga negativa	Asp, Glu
4	Básico o con carga positiva	His, Lys, Arg
5	Influencia de la orientación	Gly, Pro

A modo de ilustración, en algunas modalidades en las que la sustitución es de un residuo Met, el aminoácido de reemplazo puede seleccionarse entre Ala, Val, Leu, Ile, Trp, Tyr, Phe y Norleucina.

En algunas modalidades, un aminoácido de reemplazo en una sustitución puede tener la misma polaridad de cadena lateral que el residuo de aminoácido que reemplaza. En algunas modalidades, un aminoácido de reemplazo en una sustitución puede tener la misma carga de cadena lateral (a pH 7,4) que el residuo de aminoácido que reemplaza:

Aminoácido	Polaridad de cadena lateral	Carga de cadena lateral (pH 7,4)
Alanina	no polar	neutro
Arginina	polar básico	positivo
Asparagina	polar	neutro
Ácido aspártico	polar ácido	negativo
Cisteína	no polar	neutro
Ácido glutámico	polar ácido	negativo
Glutamina	polar	neutro
Glicina	no polar	neutro
Histidina	polar básico	positivo (10%) neutro (90%)
Isoleucina	no polar	neutro
Leucina	no polar	neutro
Lisina	polar básico	positivo
Metionina	no polar	neutro
Fenilalanina	no polar	neutro
Prolina	no polar	neutro
Serina	polar	neutro
Treonina	polar	neutro
Triptófano	no polar	neutro
Tirosina	polar	neutro
Valina	no polar	neutro

Es decir, en algunas modalidades, un aminoácido no polar se sustituye por otro aminoácido no polar no idéntico. En algunas modalidades, un aminoácido polar se sustituye por otro aminoácido polar no idéntico. En algunas modalidades, un

aminoácido polar ácido se sustituye por otro aminoácido polar ácido no idéntico. En algunas modalidades, un aminoácido polar básico se sustituye por otro aminoácido polar básico no idéntico. En algunas modalidades, un aminoácido neutro se sustituye por otro aminoácido neutro no idéntico. En algunas modalidades, un aminoácido positivo se sustituye por otro aminoácido positivo no idéntico. En algunas modalidades, un aminoácido negativo se sustituye por otro aminoácido negativo no idéntico.

En algunas modalidades, las sustituciones pueden ser funcionalmente conservadoras. Es decir, en algunas modalidades, la sustitución puede no afectar (o puede no afectar sustancialmente) una o más propiedades funcionales (por ejemplo, la unión al objetivo) de la molécula de unión al antígeno que comprende la sustitución en comparación con la molécula no sustituida equivalente.

Las moléculas de unión al antígeno de la presente divulgación comprenden una fracción de unión al antígeno que se une a HER3.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende las CDR de una fracción de unión al antígeno que es capaz de unirse a HER3. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende las FR de una fracción de unión al antígeno que es capaz de unirse a HER3. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende las CDR y las FR de un anticuerpo que es capaz de unirse a HER3. Es decir, en algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende la región VH y la región VL de un anticuerpo que es capaz de unirse a HER3.

En algunas modalidades, una fracción de unión al antígeno que es capaz de unirse a HER3 de acuerdo con la presente divulgación puede ser, o puede derivarse de, un anticuerpo de unión a HER3 seleccionado de: un anticuerpo descrito en WO 2019/185878 A1 (que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad), 10D1F (descrito, por ejemplo, en WO 2019/185878 A1), seribantumab (también conocido como MM-121, descrito, por ejemplo, en Schoeberl et ál., *Sci. Signal.* (2009) 2(77): ra31; DrugBank Acc. N.º DB11857), elgemtumab (también conocido como LJM-716, descrito, por ejemplo, en Garner et ál., *Cancer Res* (2013) 73: 6024–6035; DrugBank Acc. N.º DB15430), Patritumab (también conocido como U-1287 y AMG-888, descrito, por ejemplo, en Shimizu et ál. *Cancer Chemother Pharmacol.* (2017) 79(3):489–495; DrugBank Acc. N.º DB12090), GSK2849330 (descrito, por ejemplo, en Clarke et ál., *Eur J Cancer.* (2014) 50:98–9), lumretuzumab (también conocido como RG7116 y RO-5479599, descrito, por ejemplo, en Mirschberger et ál. *Cancer Research* (2013) 73(16) 5183-5194; DrugBank Acc. N.º DB12683), CDX-3379 (también conocido como KTN3379, descrito, por ejemplo, en Lee et ál., *Proc Natl Acad Sci USA.* 27 de octubre de 2015; 112(43):13225), AV-203 (también conocido como CAN-017, descrito, por ejemplo, en Meetze et ál., *Eur J Cancer* 2012; 48:126), barecetamab (también conocido como ISU104, descrito, por ejemplo, en Kim et ál., *Cancer Res* (2018) 78(13 Suppl):Abstract #830), TK-A3, TK-A4 (descrito, por ejemplo, en Malm et ál., *Mabs* (2016) 8:1195-209), MP-EV20 (descrito, por ejemplo, en Sala et ál., *Transl. Oncol.* (2013) 6:676-84), 1A5-3D4 (descrito, por ejemplo, en Wang et ál., *Cancer Lett* (2016) 380:20-30), 9F7-F11, 16D3-C1 (descrito, por ejemplo, en Lazrek et ál., *Neoplasia* (2013) 15:335–47), NG33, A5, F4 (descrito, por ejemplo, en Gaborit et ál., *PNAS USA* (2015) 112:839-44), huHER3-8 (descrito, por ejemplo, en Kugel et ál., *Cancer Res.* (2014) 74:4122-32), REGN1400 (descrito, por ejemplo, en Zhang et ál., *Mol Cancer Ther* (2014) 13:1345–1355) y zenocutuzumab (también conocido como MCLA-128, descrito, por ejemplo, en de Vries Schultink et ál., *Clin Pharmacokinet.* (2020) 59: 875–884; DrugBank Acc. N.º DB15559). En algunas

modalidades, la fracción de unión al antígeno es, o se deriva de, 10D1F.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno se une a la región extracelular de HER3 (por ejemplo, la región que se muestra en SEQ ID NO: 9). En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno se une al subdominio II de la región extracelular de HER3 (por ejemplo, la región que se muestra en SEQ ID NO: 16).

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno se une a la región de HER3 que se muestra en SEQ ID NO: 77. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno entra en contacto con uno o más residuos de aminoácidos de la región de HER3 que se muestra en SEQ ID NO: 77. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno se une a las regiones de HER3 que se muestran en SEQ ID NO: 78 y 79. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno entra en contacto con uno o más residuos de aminoácidos de las regiones de HER3 que se muestran en SEQ ID NO: 78 y 79. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno se une a la región de HER3 que se muestra en SEQ ID NO: 78. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno entra en contacto con uno o más residuos de aminoácidos de la región de HER3 que se muestra en SEQ ID NO: 78. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno se une a la región de HER3 que se muestra en SEQ ID NO: 79. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno entra en contacto con uno o más residuos de aminoácidos de la región de HER3 que se muestra en SEQ ID NO: 79.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno no se une a la región de HER3 correspondiente a las posiciones 260 a 279 de la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno no entra en contacto con un residuo de aminoácido de la región de HER3 correspondiente a las posiciones 260 a 279 de la SEQ ID NO: 1.

La región de un péptido/polipéptido a la cual se une una fracción de unión al anticuerpo/antígeno puede ser determinada por una persona experta utilizando varios métodos bien conocidos en la técnica, incluyendo análisis de cristalografía de rayos X de complejos anticuerpo-antígeno, escaneo de péptidos, mapeo de mutagénesis, análisis de intercambio de hidrógeno-deuterio por espectrometría de masas, visualización de fagos, ELISA de competencia y métodos de «protección» basados en proteólisis. Dichos métodos se describen, por ejemplo, en Gershoni et ál., *BioDrugs*, 2007, 21(3):145-156, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unir la misma región de HER3, o una región superpuesta de HER3, a la región de HER3 que está unida por una molécula de unión al antígeno que comprende las secuencias VH y VL de uno de los clones de anticuerpos 10D1_c89, 10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c87, 10D1_c90, 10D1_c91, 10D1_c92 y 10D1_c93 descritos en la presente. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unir la misma región de HER3, o una región superpuesta de HER3, a la región de HER3 que está unida por una molécula de unión al antígeno que comprende las secuencias VH y VL del clon de anticuerpo 10D1_c89.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno puede unirse a un polipéptido que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de una de las SEQ ID NO: 1, 3, 4, 6 u 8. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno puede unirse a un polipéptido que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno puede unirse a un polipéptido que comprende o consiste en la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 16. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que comprende, o consiste en, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que comprende, o consiste en, las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 y 79. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que comprende, o consiste en, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que comprende, o consiste en, la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno no es capaz de unirse a un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos correspondiente a las posiciones 260 a 279 de SEQ ID NO:1.

La capacidad de una fracción de unión al antígeno para unirse a un péptido/polipéptido determinado se puede analizar mediante métodos bien conocidos por el experto en la materia, incluidos el análisis por ELISA, inmunotransferencia (p. ej., Western blot), inmunoprecipitación, resonancia de plasmones superficiales (SPR; véase, p. ej., Hearty et ál., *Methods Mol Biol* (2012) 907:411-442) o interferometría de biocapa (véase, por ejemplo, Lad et ál., (2015) *J Biomol Screen* 20(4): 498-507).

En modalidades en las que la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de referencia, el péptido/polipéptido puede comprender uno o más aminoácidos adicionales en uno o ambos extremos de la secuencia de aminoácidos de referencia. En algunas modalidades, el péptido/polipéptido comprende, por ejemplo, 1-5, 1-10, 1-20, 1-30, 1-40, 1-50, 5-10, 5-20, 5-30, 5-40, 5-50, 10-20, 10-30, 10-40, 10-50, 20-30, 20-40 o 20-50 aminoácidos adicionales en uno o ambos extremos de la secuencia de aminoácidos de referencia.

En algunas modalidades, los aminoácidos adicionales proporcionados en uno o ambos extremos (es decir, los extremos N-terminal y C-terminal) de la secuencia de referencia corresponden a las posiciones en los extremos de la secuencia de referencia en el contexto de la secuencia de aminoácidos de HER3.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que está unido por un anticuerpo que comprende las secuencias VH y VL de uno de los clones de anticuerpos 10D1_c89, 10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c87, 10D1_c90, 10D1_c91, 10D1_c92 y 10D1_c93 descritos en este documento. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno es capaz de unirse a un péptido/polipéptido que está unido por un anticuerpo que comprende las secuencias VH y VL del clon de anticuerpo 10D1_c89.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende las CDR de, o comprende la VH y VL de, un clon de anticuerpo de unión a HER3 seleccionado entre 10D1_c89, 10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c87, 10D1_c90, 10D1_c91, 10D1_c92 y 10D1_c93.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende:

(4) una región VH que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40

HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43

HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48,

o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-

CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(2) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(3) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(4) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(5) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y una región VL que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(6) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y
 una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(7) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y
 una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(8) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y
 una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68
 LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(9) una región VH que incorpora las siguientes CDR:
 HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38
 HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42
 HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47,
 o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y
 una región VL que incorpora las siguientes CDR:
 LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63
 LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68

LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(10) una región VH que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38

HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42

HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45,

o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y

una región VL que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63

LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67

LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72;

o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

(11) una región VH que incorpora las siguientes CDR:

HC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38

HC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41

HC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44,

o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de HC-CDR1, HC-CDR2 o HC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido; y

una región VL que incorpora las siguientes CDR:

LC-CDR1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63

LC-CDR2 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67

LC-CDR3 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73;

o una variante de este en el que uno o dos o tres aminoácidos en uno o más de LC-CDR1, LC-CDR2 o LC-CDR3 se sustituyen por otro aminoácido.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende:

(12) una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49.

(13) una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22; y una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50.

(14) una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59.

(26) una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35; y una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60.

(27) una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36; y una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61.

(28) una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37; y una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70% de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos un 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62.

En algunas modalidades, una fracción de unión al antígeno comprende o consiste en:

(29) (i) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:75; y

(ii) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

(30) (i) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80; y

(ii) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de

identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

(31) (i) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:81; y

(ii) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

(32) (i) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:82; y

(ii) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

(33) (i) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:91; y

(ii) uno o más (por ejemplo, dos) polipéptidos que comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70%, preferiblemente uno de 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76.

En algunas modalidades, las fracciones de unión al antígeno de la presente divulgación comprenden una región Fc.

Como se utiliza en este documento, una «región Fc» se refiere a un complejo polipeptídico formado por la interacción entre dos polipéptidos, cada polipéptido comprende la región CH2-CH3 de una secuencia constante de cadena pesada de inmunoglobulina (Ig).

En este documento, un «dominio CH2» se refiere a una secuencia de aminoácidos correspondiente al dominio CH2 de una inmunoglobulina (Ig). El dominio CH2 es la región de una Ig formada por las posiciones 231 a 340 del dominio constante de inmunoglobulina, según el sistema de numeración UE descrito en Edelman et ál., Proc Natl Acad Sci USA (1969) 63(1): 78-85. Un «dominio CH3» se refiere a una secuencia de aminoácidos correspondiente al dominio CH3 de una inmunoglobulina (Ig). El dominio CH3 es la región de una Ig formada por las posiciones 341 a 447 del dominio constante de inmunoglobulina, según el sistema de numeración UE descrito en Edelman et ál., Proc Natl Acad Sci USA (1969) 63(1): 78-85. Un «dominio CH2-CH3» se refiere a una secuencia de aminoácidos correspondiente a los dominios CH2 y CH3 de una inmunoglobulina (Ig). La región CH2-CH3 es la región de una Ig formada por las posiciones 231 a 447 del dominio constante de inmunoglobulina, según el sistema

de numeración UE descrito en Edelman et ál., Proc Natl Acad Sci USA (1969) 63(1): 78-85.

En algunas modalidades, un dominio CH2, un dominio CH3 y/o una región CH2-CH3 según la presente divulgación corresponde al dominio CH2/dominio CH3/región CH2-CH3 de una IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA (p. ej. IgA1, IgA2), IgD, IgE o IgM. En algunas modalidades, el dominio CH2, el dominio CH3 y/o una región CH2-CH3 corresponde al dominio CH2/dominio CH3/región CH2-CH3 de una IgG humana (por ejemplo, hIgG1, hIgG2, hIgG3, hIgG4), hIgA (por ejemplo, hIgA1, hIgA2), hIgD, hIgE o hIgM. En algunas modalidades, el dominio CH2, el dominio CH3 y/o una región CH2-CH3 corresponde al dominio CH2/dominio CH3/región CH2-CH3 de un alotipo IgG1 humano (por ejemplo, G1m1, G1m2, G1m3 o G1m17).

Las regiones Fc permiten la interacción con los receptores Fc y otras moléculas del sistema inmunológico para producir efectos funcionales. Las funciones efectoras mediadas por Fc se revisan, por ejemplo, en Jefferis et ál., Immunol Rev 1998 163:59-76 (incorporado a la presente como referencia en su totalidad), y se producen a través del reclutamiento y la activación mediados por Fc de células inmunes (por ejemplo, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, plaquetas, mastocitos, células NK y células T) a través de la interacción entre la región Fc y los receptores Fc expresados por las células inmunes, el reclutamiento de componentes de la vía del complemento a través de la unión de la región Fc a la proteína del complemento C1q y la consiguiente activación de la cascada del complemento. Las funciones mediadas por Fc incluyen la unión del receptor Fc, la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP), la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), la formación del complejo de ataque a la membrana (MAC), la desgranulación celular, la producción de citocinas y/o quimiocinas y el procesamiento y presentación de antígenos.

La secuencia de la región CH2-CH3 del alotipo IgG1 G1m1 humano se muestra en SEQ ID NO:83. La secuencia de la región CH2-CH3 del alotipo IgG1 G1m3 humano se muestra en SEQ ID NO:84. La secuencia de la región CH2-CH3 de IgG2 humana se muestra en SEQ ID NO:85. La secuencia de la región CH2-CH3 de IgG3 humana se muestra en SEQ ID NO:86. La secuencia de la región CH2-CH3 de IgG4 humana se muestra en SEQ ID NO:87.

En algunas modalidades, una región Fc según la presente divulgación comprende dos polipéptidos, donde cada polipéptido comprende una región CH2-CH3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos ≥ 75 %, ≥ 80 %, ≥ 85 %, ≥ 86 %, ≥ 87 %, ≥ 88 %, ≥ 89 %, ≥ 90 %, ≥ 91 %, ≥ 92 %, ≥ 93 %, ≥ 94 %, ≥ 95 %, ≥ 96 %, ≥ 97 %, ≥ 98 %, ≥ 99 % o 100 % de identidad de secuencia, con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:83, 84, 85, 86 u 87. En algunas modalidades, una región Fc de referencia según la presente divulgación comprende dos polipéptidos, donde cada polipéptido comprende una región CH2-CH3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:83, 84, 85, 86 u 87.

En la técnica se conocen modificaciones de las regiones Fc de anticuerpos que influyen en las funciones mediadas por Fc, como las descritas, por ejemplo, en Wang et ál., Protein Cell (2018) 9(1):63-73, que se incorpora al presente documento como referencia en su totalidad. Las modificaciones ejemplares de la región Fc que se sabe que influyen en la función efectora de anticuerpos se resumen en la Tabla 1 de Wang et ál., Protein Cell (2018) 9(1):63-73. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación comprende una región Fc que comprende una

modificación para aumentar o reducir una función mediada por Fc en comparación con una molécula de unión al antígeno que comprende la región Fc no modificada correspondiente. Cuando se describe que una región Fc/CH2/CH3 comprende modificaciones «correspondientes a» sustituciones de referencia, se contemplan sustituciones equivalentes en el Fc/CH2/CH3 homólogo. A modo de ilustración, las sustituciones L234A/L235A en la IgG1 humana (numeradas según el sistema de numeración de la UE como se describe en Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991) corresponden a sustituciones de L a A en las posiciones 117 y 118 de la región C de la cadena gamma-2A de la Ig de ratón (UniProtKB: P01863-1, v1). Cuando se describe que una región Fc comprende una modificación, la modificación puede estar presente en una o ambas cadenas polipeptídicas que juntas forman la región Fc.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación comprende una región Fc que comprende una modificación. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación comprende una región Fc que comprende una modificación en una o más de las regiones CH2 y/o CH3.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar una función mediada por Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la ADCC. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la ADCP. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la CDC. Una molécula de unión al antígeno que comprende una región Fc que comprende una modificación para aumentar una función mediada por Fc (por ejemplo, ADCC, ADCP, CDC) induce un mayor nivel de la función efectora relevante en comparación con una molécula de unión al antígeno que comprende la región Fc no modificada correspondiente. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a un receptor Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a un receptor Fcγ. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a uno o más de FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa y FcγRIIIb. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a FcγRIIIa. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a FcγRIIa. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a FcγRIIb. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a FcRn. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a una proteína de complemento. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la unión a C1q. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para promover la hexamerización de la molécula de unión al antígeno. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la vida media de la molécula de unión al antígeno. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para aumentar la cointegración.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L como se describe en Stavenhagen et ál. *Cancer Res.* (2007) 67:8882–8890. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones S239D/I332E o S239D/I332E/A330L como se describe en Lazar et ál., *Proc Natl Acad Sci USA.* (2006)103:4005–4010. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones

S298A/E333A/K334A como se describe en Shields et ál., *J Biol Chem.* (2001) 276:6591–6604. En algunas modalidades, la región Fc comprende la modificación de uno de los polipéptidos de cadena pesada correspondientes a la combinación de sustituciones L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A, y la modificación del otro polipéptido de cadena pesada correspondiente a la combinación de sustituciones D270E/K326D/A330M/K334E, como se describe en Mimoto et ál., *Mabs.* (2013): 5:229–236. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones G236A/S239D/I332E como se describe en Richards et ál., *Mol Cancer Ther.* (2008) 7:2517–2527.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones K326W/E333S como se describe en Idusogie et ál. *J Immunol.* (2001) 166(4):2571-5. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones S267E/H268F/S324T como se describe en Moore et ál. *Mabs.* (2010) 2(2):181-9. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones descritas en Natsume et ál., *Cancer Res.* (2008) 68(10):3863-72. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones E345R/E430G/S440Y como se describe en Diebold et ál. *Science* (2014) 343(6176):1260-3.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones M252Y/S254T/T256E como se describe en Dall'Acqua et ál. *J Immunol.* (2002) 169:5171–5180.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones M428L/N434S como se describe en Zalevsky et ál. *Nat Biotechnol.* (2010) 28:157–159.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones S267E/L328F como se describe en Chu et ál., *Mol Immunol.* (2008) 45:3926–3933. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones N325S/L328F como se describe en Shang et ál. *Biol Chem.* (2014) 289:15309–15318.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir una función mediada por Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir ADCC. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir ADCP. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir CDC. Una molécula de unión al antígeno que comprende una región Fc que comprende una modificación para reducir/prevenir una función mediada por Fc (por ejemplo, ADCC, ADCP, CDC) induce un menor nivel de la función efectora relevante en comparación con una molécula de unión al antígeno que comprende la región Fc no modificada correspondiente. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a un receptor Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a un receptor Fcγ. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a uno o más de FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa y FcγRIIIb. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a FcγRIIIa. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a FcγRIIa. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a FcγRIIb. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a una proteína de complemento. En algunas modalidades, la región Fc

comprende una modificación para reducir/prevenir la unión a C1q. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación para reducir/prevenir la glicosilación del residuo de aminoácido correspondiente a N297.

En algunas modalidades, la región Fc no puede inducir una o más funciones mediadas por Fc (es decir, carece de la capacidad de obtener las funciones mediadas por Fc pertinentes). En consecuencia, las moléculas de unión al antígeno que comprenden dichas regiones Fc también carecen de la capacidad de inducir las funciones pertinentes. Se puede decir que dichas moléculas de unión al antígeno carecen de las funciones pertinentes. En algunas modalidades, la región Fc no puede inducir ADCC. En algunas modalidades, la región Fc no puede inducir ADCP. En algunas modalidades, la región Fc no puede inducir CDC. En algunas modalidades, la región Fc no puede inducir ADCC y/o no puede inducir ADCP y/o no puede inducir CDC. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a un receptor Fc. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a un receptor Fcγ. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a uno o más de FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa y FcγRIIIb. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a FcγRIIIa. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a FcγRIIa. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a FcγRIIb. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a FcRn. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a una proteína de complemento. En algunas modalidades, la región Fc no puede unirse a C1q.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a N297A o N297Q o N297G como se describe en Leabman et ál., *Mabs.* (2013) 5:896–903. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a L235E como se describe en Alegre et ál., *J Immunol.* (1992) 148:3461–3468. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones L234A/L235A o F234A/L235A como se describe en Xu et ál., *Cell Immunol.* (2000) 200:16–26. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a P329A o P329G como se describe en Schlothauer et ál., *Protein Engineering, Design and Selection* (2016), 29(10):457–466. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones L234A/L235A/P329G como se describe en Lo et ál. *J. Biol. Chem* (2017) 292(9):3900–3908. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones descritas en Rother et ál., *Nat Biotechnol.* (2007) 25:1256–1264. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones S228P/L235E como se describe en Newman et ál., *Clin. Immunol.* (2001) 98:164–174. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones H268Q/V309L/A330S/P331S como se describe en An et ál., *Mabs.* (2009) 1:572–579. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S como se describe en Vafa et ál., *Methods.* (2014) 65:114–126. En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la combinación de sustituciones L234A/L235E/G237A/A330S/P331S como se describe en US 2015/0044231 A1.

Se sabe que la combinación de sustituciones 'L234A/L235A' y sustituciones correspondientes (como, por ejemplo, F234A/L235A en IgG4 humana) interrumpe la unión de Fc a los receptores Fcγ e inhibe ADCC, ADCP y también reduce la unión de C1q y, por lo tanto, CDC (Schlothauer et ál., *Protein Engineering, Design and Selection*

(2016), 29(10):457–466, que se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad). Las sustituciones 'P329G' y 'P329A' reducen la unión de C1q (y por lo tanto la CDC). Se sabe que la sustitución de 'N297' por 'A', 'G' o 'Q' elimina la glicosilación y, por lo tanto, reduce la unión de Fc a los receptores C1q y Fcγ, y, por lo tanto, CDC y ADCC. Lo et ál. *J. Biol. Chem* (2017) 292(9):3900-3908 (incorporado a la presente como referencia en su totalidad) informa que la combinación de sustituciones L234A/L235A/P329G eliminó la unión y fijación del complemento, así como la citotoxicidad dependiente del receptor Fcγ, dependiente de anticuerpos y mediada por células, tanto en IgG2a murina como en IgG1 humana.

La combinación de sustituciones L234A/L235E/G237A/A330S/P331S en IgG1 Fc se describe en US 2015/0044231 A1 para abolir la inducción de fagocitosis, ADCC y CDC.

En algunas modalidades, la región Fc comprende una modificación correspondiente a la sustitución S228P como se describe en Silva et ál., *J Biol Chem*. (2015) 290(9):5462-5469. La sustitución S228P en IgG4 Fc reduce el intercambio del brazo Fab (el intercambio del brazo Fab puede ser indeseable).

En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende una diferencia de aminoácidos en una o más de las siguientes posiciones, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 de un dominio Fc de referencia: 234, 235, 252, 254 o 256 (según el sistema de numeración de la UE). En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende diferencias de aminoácidos en las posiciones 234 y 235, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 de un dominio Fc de referencia. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende diferencias de aminoácidos en las posiciones 252, 254 y 256, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 de un dominio Fc de referencia. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende diferencias de aminoácidos en las posiciones 234, 235, 252, 254 y 256, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 de un dominio Fc de referencia.

En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos especificados: A234, A235, Y252, T254 o E256 (según el sistema de numeración de la UE).

En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende Y252, T254 y E256. Se ha demostrado que estas modificaciones denominadas «YTE» ubicadas en la interfaz CH2-CH3 del dominio Fc aumentan la afinidad de unión a pH 6,0 con el receptor Fc neonatal de clase I del MHC (FcRn), localizado dentro de los endosomas ácidos de las células endoteliales y hematopoyéticas, lo que aumenta el reciclaje eficiente del mAb administrado y una vida media más larga en el plasma.

Estudios previos han demostrado que las interacciones del receptor Fcγ conducen a la captación de ADC por células normales (es decir, no cancerosas) y pueden provocar citopenia grave (por ejemplo, leucopenia); consulte Zhao et ál., *Mol Cancer Ther* (2017) 16(9): 1866–1876.

En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende A234 y A235. Se sabe que estas modificaciones denominadas 'LALA' suprimen la interacción del dominio Fc con los receptores Fcγ expresados por las células hematopoyéticas y potencialmente reducen las toxicidades mediadas por la interacción del receptor Fc-Fcγ.

En algunas modalidades, la región Fc de la fracción de unión a HER3 según la

presente divulgación comprende un dominio CH2 que comprende A234 y A235 (numeración UE). En algunas modalidades, la región Fc de la fracción de unión a HER3 comprende un dominio CH2 que comprende Y252, T254 y E256 (numeración UE). En algunas modalidades, la región Fc de la fracción de unión a HER3 comprende un dominio CH2 que comprende A234, A235, Y252, T254 y E256 (numeración UE). En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende A234, A235, Y252, T254 y E256.

En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 del dominio Fc de referencia: L234A, L235A, M252Y, S254T o T256E (según el sistema de numeración de la UE). En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende L234A y L235A, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 del dominio Fc de referencia. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende M252Y, S254T y T256E, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 del dominio Fc de referencia. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una región CH2-CH3 que comprende L234A, L235A, M252Y, S254T y T256E, en relación con la secuencia de aminoácidos de una región CH2-CH3 del dominio Fc de referencia.

En algunas modalidades, una región Fc según la presente divulgación comprende dos polipéptidos, donde cada polipéptido comprende una región CH2-CH3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 86\%$, $\geq 87\%$, $\geq 88\%$, $\geq 89\%$, $\geq 90\%$, $\geq 91\%$, $\geq 92\%$, $\geq 93\%$, $\geq 94\%$, $\geq 95\%$, $\geq 96\%$, $\geq 97\%$, $\geq 98\%$, $\geq 99\%$ o 100 % de identidad de secuencia, con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:88, 89 o 90.

En algunas modalidades, una fracción de unión al antígeno según la presente divulgación comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia, más preferiblemente una de al menos $\geq 75\%$, $\geq 80\%$, $\geq 85\%$, $\geq 86\%$, $\geq 87\%$, $\geq 88\%$, $\geq 89\%$, $\geq 90\%$, $\geq 91\%$, $\geq 92\%$, $\geq 93\%$, $\geq 94\%$, $\geq 95\%$, $\geq 96\%$, $\geq 97\%$, $\geq 98\%$, $\geq 99\%$ o 100 % de identidad de secuencia, con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94, 95 o 96.

Una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación puede comprender una fracción de unión a HER3 según cualquier modalidad descrita anteriormente, y una fracción de carga útil del enlazador que comprende exatecán o un derivado de este, como se describe a continuación. En modalidades preferidas, la fracción de unión a HER3 se selecciona de una de las (1) a (33) anteriores.

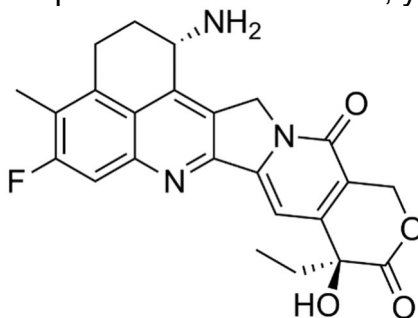
Fracción de carga útil del enlazador

Las moléculas de unión al antígeno de la presente divulgación comprenden una fracción de carga útil del enlazador. Como se utiliza en la presente, una fracción de carga útil del enlazador se refiere a una fracción que comprende una fracción de carga útil y una fracción de enlace para unir la fracción de carga útil a la fracción de unión al antígeno (en el caso de la presente divulgación, la fracción de unión a HER3).

Las moléculas de unión al antígeno de la presente divulgación comprenden una porción de unión a HER3 y una porción de carga útil del enlazador que comprende exatecán o un derivado de este. Es decir, la fracción de carga útil de la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación es exatecán o un derivado de este.

Exatecán (también conocido como (1S,9S)-1-Amino-9-etil-5-fluoro-9-hidroxi-4-metil-1,2,3,9,12,15-hexahidro-10H,13H-benzo[de]pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-10,13-diona; DX-8951; registro DrugBank n.º DB12185) es un derivado de la

camptotecina, inhibidor de la topoisomerasa I del ADN, y tiene la estructura:



El exatecán se describe, por ejemplo, en Takiguchi et ál., Jpn J Cancer Res. (1997) 88(8):760-769, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. Se han investigado el exatecán y los derivados del exatecán como carga útil para conjugados anticuerpo-fármaco; véase, por ejemplo, Nakada et ál., Bioorg. Med. Chem. Lett. (2016) 26:1542-1545, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. La fracción de carga útil del enlazador de la presente divulgación comprende exatecán o un derivado de este. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende exatecán o un derivado de exatecán descrito en WO 2022/058395 A1, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende exatecán, N-glicil-exatecán o deruxtecán. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno o la fracción de carga útil del enlazador de la presente divulgación no comprende deruxtecán. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende exatecán o N-glicil-exatecán. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende exatecán.

La fracción de carga útil del enlazador comprende una fracción del enlazador. Tal como se utiliza en la presente}, una fracción enlazadora se refiere a una fracción que conecta dos o más elementos de un compuesto. Las fracciones enlazadoras para conjugar fracciones de carga útil con fracciones de unión al antígeno se describen, por ejemplo, en Su et ál., Acta Pharmaceutica Sinica B (2021) 11(12):3889-3907 y Tsuchikama y An, Protein Cell. (2018) 9(1):33-46, ambos incorporados al presente documento como referencia en su totalidad.

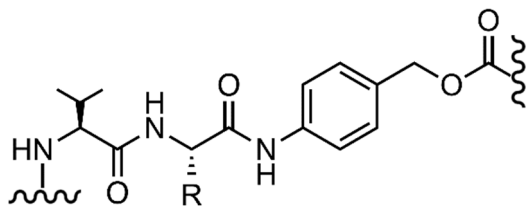
En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende una fracción de enlazador escindible. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende un dipéptido escindible por proteasa lisosomal. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende una fracción escindible por catepsina (por ejemplo, catepsina B, K y/o L). En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende una fracción escindible por catepsina B.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende el dipéptido valina-alanina o valina-citrulina. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende el dipéptido valina-alanina.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción de enlazador comprende una fracción autoinmolativa. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende un grupo carbamato de p-aminobencilo (PABC).

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción enlazadora comprende la estructura (D):

(D)

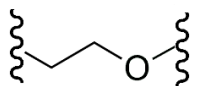


donde R se selecciona entre CH_3 y $(\text{CH}_2)_3\text{NHCOCNH}_2$.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende una fracción espaciadora. Tal como se utiliza en este documento, una fracción espaciadora se refiere a una fracción que espacia (es decir, proporciona distancia entre) y une covalentemente dos (o más) partes de una fracción enlazadora. Las fracciones espaciadoras incluyen fracciones que comprenden o consisten en: una fracción de polietilenglicol (PEG), una fracción de acil sulfamida polar, una fracción de carbamoil sulfamida polar y/o una fracción HydraSpace.

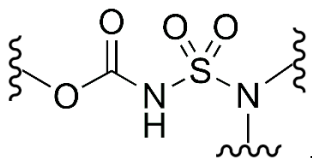
En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o la fracción espaciadora comprende una fracción de polietilenglicol (PEG). En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción espaciadora comprende la estructura (G):

(G)



En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o la fracción espaciadora comprende una fracción de acil sulfamida polar o una fracción de carbamoil sulfamida polar. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o la fracción espaciadora comprende una o más fracciones HydraSpace. Tal como se utiliza en este documento, una fracción HydraSpace se refiere a una fracción que tiene la estructura (H):

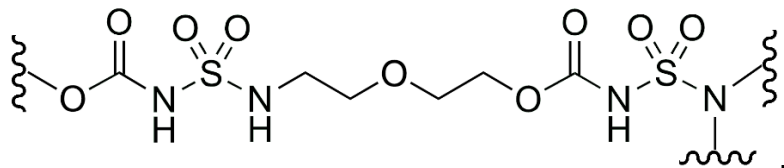
(H)



Las fracciones HydraSpace se describen, por ejemplo, en Verkade et ál., Antibodies (Basel) (2018) 7(1):12 y WO 2016/053107 A1, ambos incorporados a la presente como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende una estructura de un compuesto descrito en WO 2016/053107 A1.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador o fracción espaciadora comprende la estructura I:

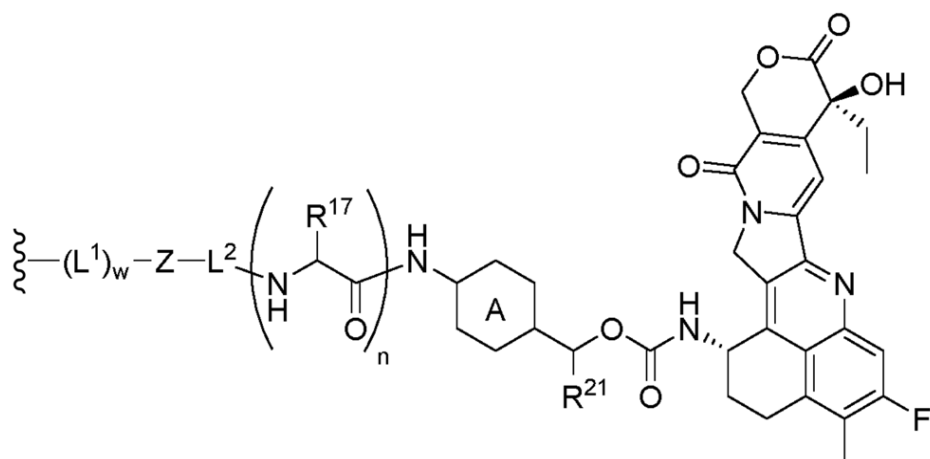
I



En modalidades preferidas, la fracción de carga útil del enlazador de la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación es una carga útil del enlazador descrita en WO 2022/058395 A1, que se incorpora por referencia en su totalidad.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador de unión al antígeno comprende o consiste en la estructura (I):

(I)

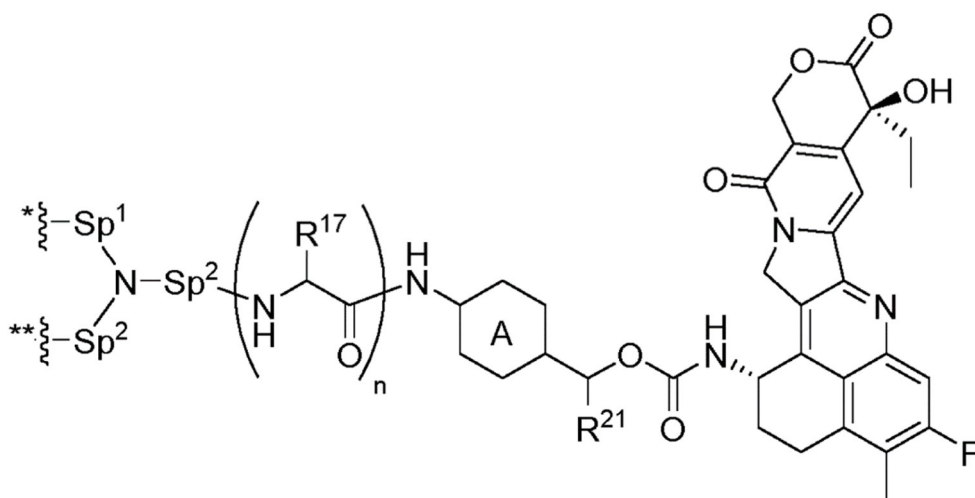


donde:

 L^1 y L^2 son fracciones enlazadoras; w es 0 o 1; Z es un grupo de conexión obtenido mediante una reacción de clic sin metal o mediante ligadura de tiol;cada R^{17} es individualmente una cadena lateral de aminoácido; n es un número entero en el rango de 1 a 5; A es un anillo aromático o heteroaromático de 5 o 6 miembros; x es un número entero en el rango de 1 a 8; y R^{21} se selecciona entre H, R^{22} , $C(O)OH$ y $C(O)R^{22}$, donde R^{22} es grupos (hetero)alquilo C_1 - C_{24} , grupos (hetero)cicloalquilo C_3 - C_{10} , grupos (hetero)arilo C_2 - C_{10} , grupos alquil(hetero)arilo C_3 - C_{10} y grupos (hetero)arilalquilo C_3 - C_{10} , que están opcionalmente sustituidos y opcionalmente interrumpidos por uno o más heteroátomos seleccionados entre O, S y NR^{23} , donde R^{23} se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y grupos alquilo C_1 - C_4 .

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador comprende la estructura (J):

(J)



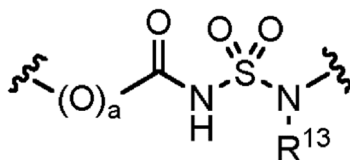
donde:

el enlace ondulado marcado con * está conectado a Z , y el enlace ondulado marcado con ** está conectado a NH ; Sp^1 y Sp^2 son cada uno fracciones espaciadoras individuales; y n , AR^{17} y R^{21} son como se definen en la estructura (I) anterior.

Es decir, en algunas modalidades, L^2 de la estructura (I) comprende una fracción ramificada, preferiblemente a través de un átomo de nitrógeno, de modo que dos fracciones de carga útil están conectadas a una única fracción Z. Una 'fracción ramificada' se refiere a una fracción que está incrustada en un enlazador que conecta tres fracciones. En otras palabras, la fracción ramificada comprende al menos tres enlaces a otras fracciones, típicamente un enlace a la fracción de unión a HER-3, que se conecta a Z, un enlace a la fracción de carga útil y un enlace a una segunda fracción de carga útil. La fracción ramificada está preferiblemente incrustada en el enlazador L^2 .

En algunas modalidades, cada aparición de Sp^2 es la misma. En algunas modalidades, cada aparición de $(NH-CR^{17}-CO)_n$ es la misma. En algunas modalidades, cada aparición de A es la misma. En algunas modalidades, cada aparición de R^{21} es la misma.

En algunas modalidades, L^2 de la estructura (I) tiene la estructura (K):
(K)



Las líneas onduladas representan la conexión con el resto del compuesto, normalmente a Z

y a $(NH-CR^{17}-CO)_n$, opcionalmente a través de un espaciador. Preferiblemente, la fracción $(O)_aC(O)$ está conectada a Z

y la fracción NR^{13} a $(NH-CR^{17}-CO)_n$. En caso de que el enlazador L^2 comprenda una fracción espaciadora Sp^1 , se

prefiere que el grupo sulfamida según la estructura (K) esté comprendido en la fracción espaciadora Sp^1 .

Por lo tanto, en algunas modalidades, L^2 comprende la estructura (K), donde:

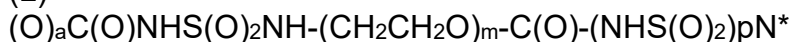
$a = 0$ o 1 , y

R^{13} se selecciona del grupo que consiste en grupos alquilo C_1-C_{24} , grupos cicloalquilo C_3-C_{24} , grupos (hetero)arilo C_2-C_{24} , grupos alquil(hetero)arilo C_3-C_{24} y grupos (hetero)arilalquilo C_3-C_{24} , los grupos alquilo C_1-C_{24} , grupos cicloalquilo C_3-C_{24} , grupos (hetero)arilo C_2-C_{24} , grupos alquil(hetero)arilo C_3-C_{24} y grupos (hetero)arilalquilo C_3-C_{24} opcionalmente sustituidos y opcionalmente interrumpidos por uno o más heteroátomos seleccionados de O, S y NR^{14} , donde R^{14} se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y grupos alquilo C_1-C_4 , o R^{13} es una segunda aparición de $C(O)X$ conectado a N a través de una fracción espaciadora.

En algunas modalidades, L^2 comprende dos grupos de estructura (K).

En algunas modalidades, el enlazador L^2 , preferiblemente el espaciador Sp^1 , comprende la estructura (L):

(L)



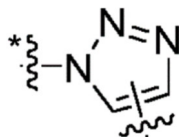
donde: a es 0 o 1 y m es un número entero en el rango de 1 a 10, y p es 0 o 1. N^* puede representar una fracción ramificada.

En algunas modalidades, cada aparición de $(NH-CR^{17}-CO)_n$ se selecciona de Val-Cit, Val-Ala, Val-Lys, Val-Arg, AcLys-Val-Cit, AcLys-Val-Ala, Glu-Val-Ala, Asp-Val-Ala, Phe-Cit, Phe-Ala, Phe-Lys, Phe-Arg, Ala-Lys, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Ala-Ala-Asn, Ala-Asn y Lys. En algunas modalidades, cada aparición de $(NH-CR^{17}-CO)_n$ se selecciona entre Val-Cit, Val-Ala, Glu-Val-Ala, Val-Lys, Phe-Cit, Phe-Ala, Phe-Lys,

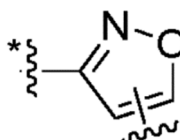
Ala-Ala-Asn. En algunas modalidades, cada aparición de $(\text{NH-CR}^{17}\text{-CO})_n$ es Val-Cit o Val-Ala.

En algunas modalidades, Z de la estructura (I) tiene una estructura seleccionada entre la estructura (Z1) a (Z21):

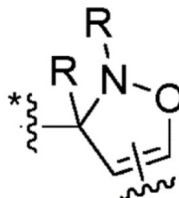
(Z1)



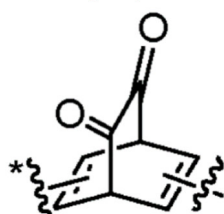
(Z2)



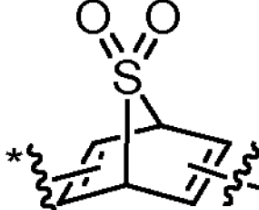
(Z3)



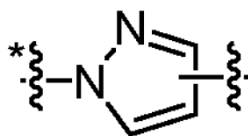
(Z4)



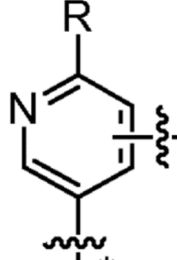
(Z5)



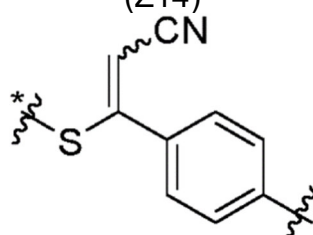
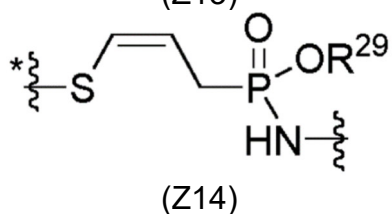
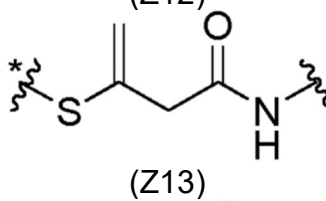
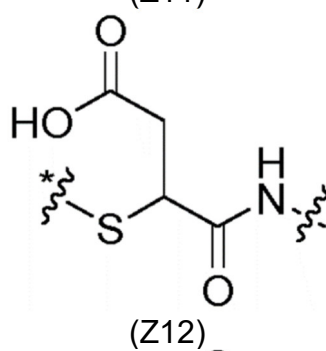
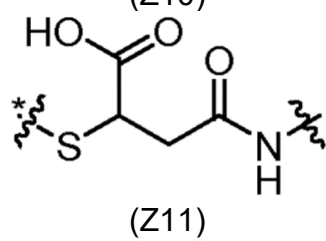
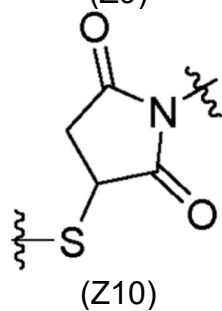
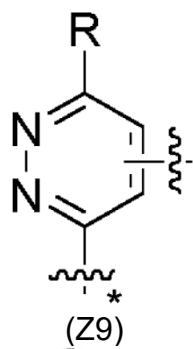
(Z6)

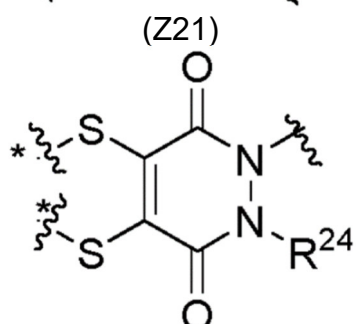
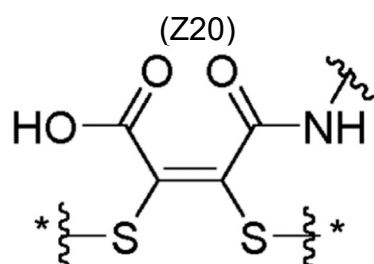
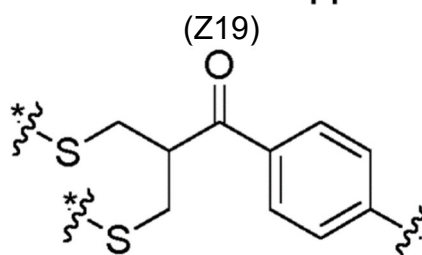
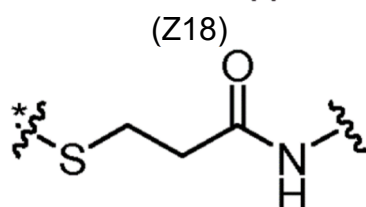
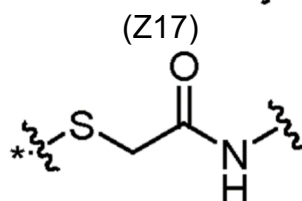
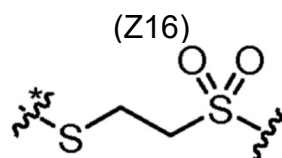
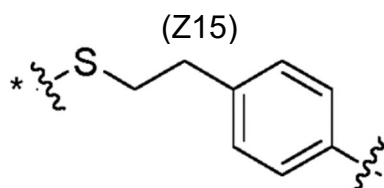


(Z7)



(Z8)





donde:

el enlace ondulado marcado con * está conectado a la fracción de unión de HER3, opcionalmente a través de L¹, y el otro enlace ondulado está conectado a L²; los grupos funcionales R en (Z3), (Z7) y (Z8) se seleccionan entre hidrógeno, grupos alquilo_{C1-C24}, grupos acilo C_{2-C24}, grupos cicloalquilo C_{3-C24}, grupos (hetero)arilo C_{2-C24}, grupos alquil(hetero)arilo C_{3-C24}, grupos (hetero)arilalquilo C_{3-C24} y grupos

R²⁴ es H o alquilo C₁₋₁₂, preferiblemente H o alquilo C₁₋₆;

En algunas modalidades, Z de la estructura (I) es de acuerdo con la estructura (Z22):

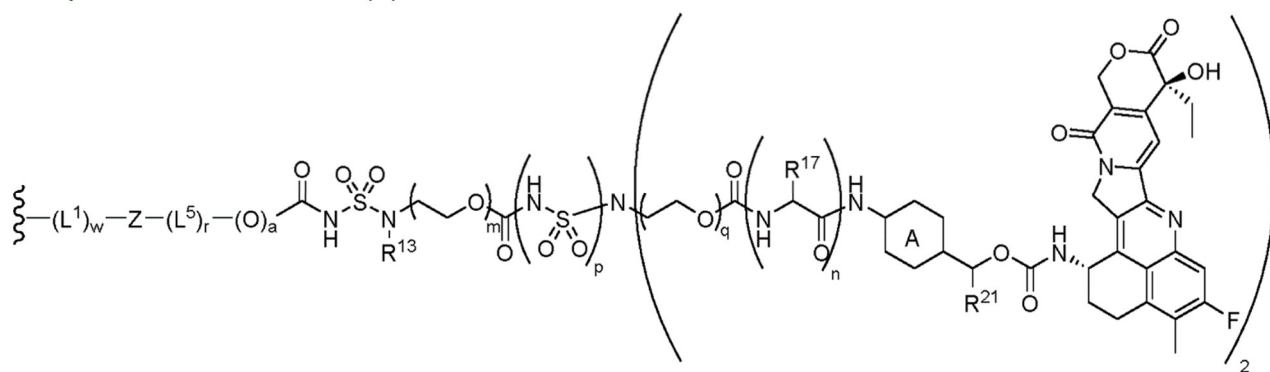


el enlace ondulado marcado con * está conectado a la fracción de unión a HER3, opcionalmente a través de L¹, y el otro enlace ondulado está conectado a L²;

R¹⁸ se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, grupos alquilo C₁- C₆, más preferiblemente ambos R¹⁸ son H;

l es 0 o 1, más preferiblemente l es 1.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación comprende la estructura (L):



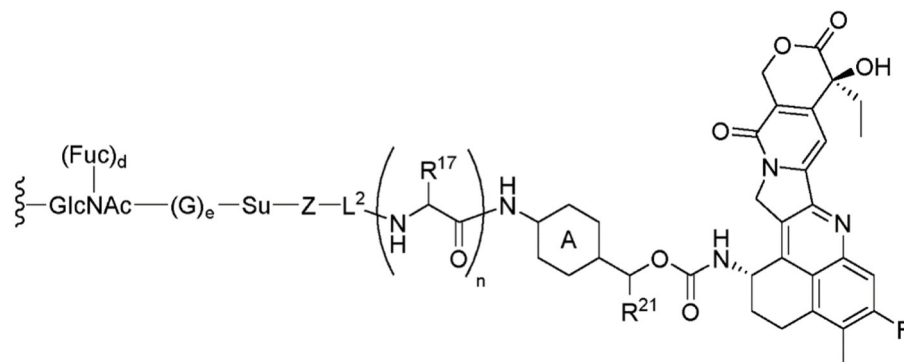
L^1 , Z , A , R^{21} , n , R^{17} y x son como se definen en la estructura (I) anterior;

L^5 es una fracción enlazadora;

m es un número entero en el rango de 1 a 10;

pres 0 o 1.

(M)



donde Z, L², R¹⁷, A, R²¹, n y x son como se definen en la estructura (I) anterior;
e es un número entero en el rango de 0 a 20;

Su es un monosacárido;

G es una fracción monosacárida;

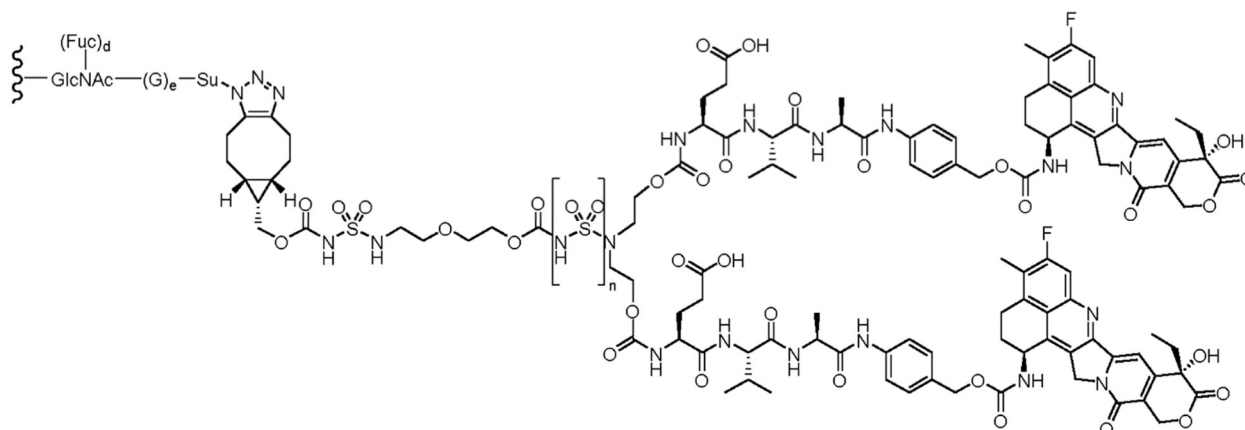
GlcNAc es una fracción de N-acetilglucosamina;

Fuc es una fracción de fucosa; y

d es 0 o 1.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación comprende la estructura (N):

(N)

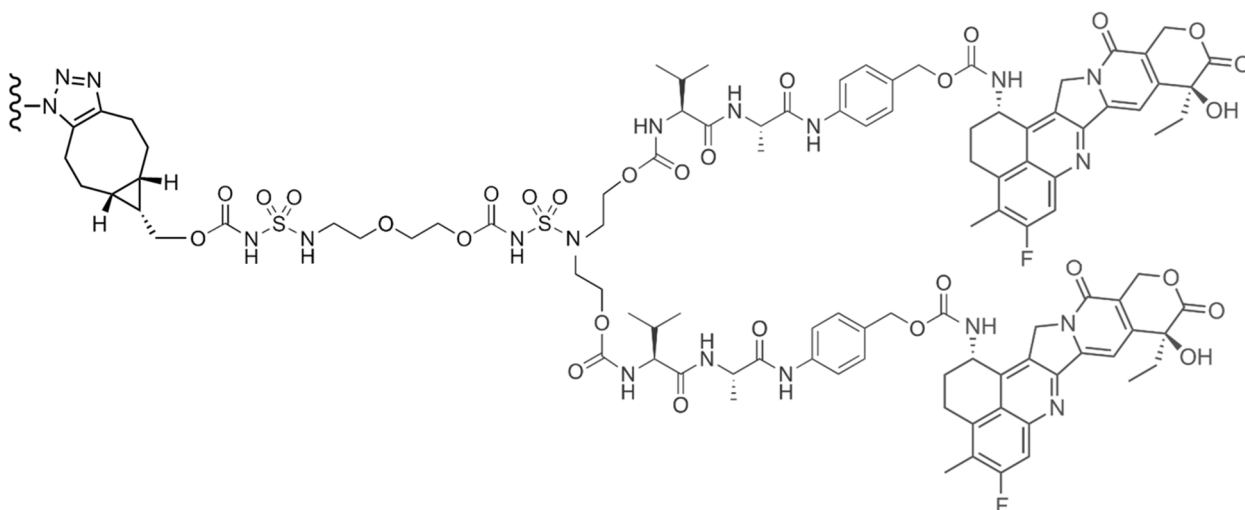


donde:

e, Su, G, GlcNAc, Fuc y d son como se definen en la estructura (M) anterior; y
n es 0 o 1.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación comprende SYNtecan E. Es decir, en algunas modalidades, las moléculas de unión al antígeno de la presente divulgación comprenden una fracción de unión a HER3 y SYNtecan E.

Tal como se utiliza en la presente, 'SYNtecan E' se refiere a una fracción que consta de la siguiente estructura:



Propiedades funcionales de las moléculas de unión al antígeno

Las moléculas de unión al antígeno descritas en este documento pueden caracterizarse por referencia a determinadas propiedades funcionales. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno descrita en este documento puede poseer una o más de las siguientes propiedades:

- se une a las células que expresan HER3;
- se une a las células que expresan HER3 en presencia de NRG1;
- inhibe la proliferación de células que expresan HER3;
- aumenta la muerte de células que expresan HER3;
- inhibe el crecimiento del tumor y/o reduce el tamaño/volumen del tumor (por ejemplo, de un cáncer que expresa HER3);
- aumenta la supervivencia de sujetos que padecen un cáncer (por ejemplo, un cáncer que expresa HER3);
- no muestra una unión sustancial mediada por Fc a las PBMC (por ejemplo, las PBMC humanas);
- no muestra una unión sustancial a los receptores Fcγ humanos (por ejemplo, FcγRIA, FcγRIIA y/o FcγRIIIA);
- se internaliza en las células que expresan HER3;
- no muestra una captación dependiente de macropinocitosis sustancial por los megacariocitos humanos;
- no induce leucopenia sustancial;
- no induce neutropenia sustancial;
- no induce trombocitopenia sustancial;
- no induce anemia sustancial;
- no induce enfermedad pulmonar intersticial sustancial;
- no altera sustancialmente la función hepática;
- no altera sustancialmente la función renal; y/o
- no afecta sustancialmente la función pulmonar.

Se reconocerá que una molécula de unión al antígeno dada puede mostrar más de una de las propiedades mencionadas en el párrafo anterior. Una molécula de unión al antígeno dada puede evaluarse para las propiedades mencionadas en el párrafo anterior utilizando ensayos adecuados. Por ejemplo, los ensayos pueden ser, por ejemplo, ensayos in vitro, opcionalmente ensayos basados en células o ensayos sin células. En algunas modalidades, los ensayos pueden ser, por ejemplo, ensayos in vivo, es decir realizados en animales no humanos. En algunas modalidades, los ensayos pueden ser, por ejemplo, ensayos ex vivo, es decir, realizados utilizando

células/tejido/un órgano obtenido de un sujeto.

Cuando los ensayos son ensayos basados en células, pueden comprender el tratamiento de células con una molécula de unión al antígeno para determinar si la molécula de unión al antígeno muestra una o más de las propiedades mencionadas. Los ensayos pueden emplear especies marcadas con entidades detectables para facilitar su detección. Los ensayos pueden comprender la evaluación de las propiedades mencionadas después del tratamiento de las células por separado con un rango de cantidades/concentraciones de una molécula de unión al antígeno dada (por ejemplo, una serie de diluciones).

El análisis de los resultados de dichos ensayos puede incluir la determinación de la concentración a la que se alcanza el 50% del nivel máximo de la actividad relevante. La concentración de un agente determinado en la que se alcanza el 50% del nivel máximo de la actividad relevante puede denominarse «mitad de la concentración efectiva máxima» del agente en relación con la actividad relevante, que también puede denominarse «EC₅₀». Dependiendo de la propiedad, la EC₅₀ también puede denominarse «mitad de la concentración inhibidora máxima» o «IC₅₀», siendo esta la concentración del agente en la que se observa el 50% del nivel máximo de inhibición de una propiedad dada.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación se une a HER3 en una región que es accesible a una molécula de unión al antígeno (es decir, una molécula de unión al antígeno extracelular) cuando HER3 se expresa en la superficie celular (es decir, en o sobre la membrana celular). En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno se une a HER3 expresado en la superficie celular de una célula que expresa HER3. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno se une a las células que expresan HER3 (por ejemplo, células H358, T47D o OVCAR8, HCT116 o DU145).

La capacidad de una molécula de unión al antígeno para unirse a un tipo de célula determinado se puede analizar poniendo en contacto las células con la molécula de unión al antígeno y detectando la molécula de unión al antígeno unida a las células, por ejemplo, después de un paso de lavado para eliminar la molécula de unión al antígeno no unida. La capacidad de una molécula de unión al antígeno para unirse a las células que expresan HER3 se puede analizar mediante métodos como la citometría de flujo y la microscopía de inmunofluorescencia. Por ejemplo, la capacidad de una molécula de unión al antígeno para unirse a células que expresan HER3 se puede evaluar como se describe en el Ejemplo 3.1 de la presente.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno descrita en este documento se une a células que expresan HER3 humano con una EC₅₀ de 10 nM o menos, preferiblemente uno de ≤5 nM, ≤4 nM, ≤3 nM, ≤2 nM, ≤1 nM, ≤900 pM, ≤800 pM, ≤700 pM, ≤600 pM o ≤500 pM, por ejemplo, según lo determinado por análisis como se describe en el Ejemplo 3.1.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno es capaz de unirse a HER3 y/o células que expresan HER3 en presencia y/o ausencia de un ligando para HER3 (por ejemplo, NRG, NRG1 y/o NRG2). En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno es capaz de unirse a HER3 y/o células que expresan HER3 independientemente de un ligando para HER3 (por ejemplo, NRG, NRG1 y/o NRG2). En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no compite con un ligando para HER3 (por ejemplo, NRG, NRG1 y/o NRG2) para unirse a HER3 y/o células que expresan HER3. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no se une a HER3 en el sitio de unión al ligando. La capacidad de una molécula de unión al

antígeno para unirse a células que expresan HER3 se puede evaluar como se describe en el Ejemplo 3.2 de la presente.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno inhibe la proliferación de células que expresan HER3 (por ejemplo, células cancerosas que expresan HER3). La capacidad de una molécula de unión al antígeno para inhibir la proliferación de un tipo de célula determinado se puede analizar poniendo en contacto las células con la molécula de unión al antígeno en presencia de un ligando para HER3 (por ejemplo, NRG1) y evaluar posteriormente la proliferación de las células (es decir, después de un período de tiempo suficiente para que se observe un efecto sobre la proliferación celular). La proliferación celular se puede evaluar, por ejemplo, detectando cambios en el número de células a lo largo del tiempo, o mediante análisis in vitro de la incorporación de ^3H -timidina o mediante ensayo de dilución de CFSE, por ejemplo, como se describe en Fulcher y Wong, *Immunol Cell Biol* (1999) 77(6): 559-564, incorporado a la presente como referencia en su totalidad. Por ejemplo, la capacidad de una molécula de unión al antígeno para inhibir la proliferación de células que expresan HER3 se puede evaluar como se describe en el Ejemplo 3.4 de la presente. En este ejemplo, se utilizó el kit de conteo celular – 8 (CCK8) para medir la proliferación celular. La CCK8 contiene una sal de tetrazolio que las deshidrogenasas celulares reducen a un producto formazán naranja, que es soluble en el medio de cultivo de tejidos. La cantidad de formazán producida es directamente proporcional al número de células vivas y se mide por absorbancia a 460 nm (Li et ál., *Cell Prolif.* (2021) 54(3):e12986; Zhang et ál., *Genome Biol.* (2021) 22(1):41).

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente invención es capaz de inhibir la proliferación de células que expresan HER3 a menos de 1 vez, por ejemplo, $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces o $\leq 0,01$ veces el nivel de proliferación de células que expresan HER3 observada en ausencia de la molécula de unión al antígeno (o en presencia de una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no influye en la proliferación de células que expresan HER3), en un ensayo determinado.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno descrita en este documento inhibe la proliferación de células que expresan HER3 humano con una IC_{50} de 100 nM o menos, preferiblemente uno de ≤ 50 nM, ≤ 40 nM, ≤ 30 nM, ≤ 20 nM, ≤ 10 nM, ≤ 5 nM, ≤ 4 nM, ≤ 3 nM, ≤ 2 nM, ≤ 1 nM, ≤ 900 pM, ≤ 800 pM, ≤ 700 pM, ≤ 600 pM o ≤ 500 pM, por ejemplo, según lo determinado por análisis como se describe en el Ejemplo 3.4.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno según la presente divulgación potencia (es decir, regula positivamente, mejora) la muerte celular de células que comprenden/expresan HER3.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación puede inhibir el crecimiento o reducir la metástasis de un cáncer que comprende células que comprenden/expresan HER3. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno puede potenciar (es decir, regular positivamente, mejorar) la muerte celular de células que comprenden/expresan HER3. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno puede inhibir el crecimiento de células de un cáncer, o puede inhibir el crecimiento de un tumor, que comprende células que comprenden/expresan HER3. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno puede inhibir la metástasis de un cáncer/tumor que comprende células que comprenden/expresan HER3.

La muerte celular se puede investigar, por ejemplo, utilizando cualquiera de los

métodos revisados en Zaritskaya et ál., *Expert Rev Vaccines* (2011), 9(6):601-616, incorporado en la presente como referencia en su totalidad. Los ejemplos de ensayos in vitro de citotoxicidad/muerte celular incluyen ensayos de liberación como el ensayo de liberación de ^{51}Cr , el ensayo de liberación de lactato deshidrogenasa (LDH), el ensayo de liberación de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) y el ensayo de liberación de calceína-acetoximetil (calceína-AM). Estos ensayos miden la muerte celular basándose en la detección de factores liberados por las células lisadas.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación es capaz de reducir la cantidad/proporción de células que expresan HER3. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación es capaz de agotar/mejorar el agotamiento de dichas células.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno de la presente divulgación muestra actividad anticancerígena. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno aumenta la eliminación de células cancerosas. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno provoca una reducción en el número de células cancerosas in vivo, por ejemplo, en comparación con una condición de control apropiada. El cáncer puede ser un cáncer como se describe en este documento, por ejemplo, un cáncer que expresa/sobreexpresa HER3.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación reduce/inhibe el crecimiento de un cáncer y/o de un tumor de un cáncer. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno reduce la invasión de tejido por células de un cáncer. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno reduce la metástasis de un cáncer. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno muestra actividad anticancerígena. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno reduce el crecimiento/proliferación de células cancerosas. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno reduce la supervivencia de las células cancerosas. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno aumenta la eliminación de células cancerosas. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno de la presente divulgación provoca una reducción en el número de células cancerosas, por ejemplo, in vivo. El cáncer puede ser un cáncer que comprende células que expresan HER3.

Una molécula de unión al antígeno de la presente divulgación puede analizarse para las propiedades descritas en el párrafo anterior en ensayos apropiados. Estos ensayos incluyen, por ejemplo, modelos in vivo. Las moléculas de unión al antígeno pueden evaluarse para dichas propiedades en experimentos realizados esencialmente como se describe en el Ejemplo 4.1 de la presente.

En algunas modalidades, la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación puede causar uno o más de: inhibición del desarrollo/progresión del cáncer, un retraso/prevención de la aparición del cáncer, una reducción/retraso/prevención del crecimiento del tumor, una reducción/retraso/prevención de la invasión tisular, una reducción/retraso/prevención de la metástasis, una reducción en la gravedad de uno o más síntomas del cáncer, una reducción en el número de células cancerosas, una reducción en la carga del cáncer, una reducción en el tamaño/volumen del tumor y/o un aumento en la supervivencia de sujetos que tienen el cáncer (p. ej. supervivencia libre de progresión o supervivencia general), p. ej. según se determine en un modelo apropiado.

Se reconocerá que las propiedades mencionadas en el párrafo anterior se evalúan después de un período de tiempo suficiente para que se observe un efecto asociado con el tratamiento que utiliza la molécula de unión al antígeno. El crecimiento del tumor

se puede controlar investigando el volumen del tumor a lo largo del tiempo. El crecimiento del tumor se puede evaluar midiendo el volumen del tumor (por ejemplo, en mm³) a lo largo del tiempo.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno de la presente divulgación es capaz de reducir el tamaño/volumen del tumor (p. ej., el tamaño/volumen medio del tumor para el grupo de tratamiento en un modelo in vivo, p. ej., de un cáncer que expresa HER3) a menos de 1 vez, p. ej., $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces o $\leq 0,01$ veces el tamaño/volumen del tumor observado en el mismo punto temporal en ausencia de tratamiento con la molécula de unión al antígeno (o después del tratamiento con una molécula de unión al antígeno de control adecuada que se sabe que no influye en el crecimiento del tumor), en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la evaluación del tamaño/volumen del tumor para los fines de dicha comparación se realiza después de más de 5 días, por ejemplo, uno de ≥ 10 días, ≥ 15 días, ≥ 20 días, ≥ 25 días, ≥ 30 días, ≥ 35 días, ≥ 40 días, ≥ 35 días, ≥ 50 días, ≥ 55 días, ≥ 60 días, ≥ 65 días, ≥ 70 días, ≥ 75 días, ≥ 80 días, ≥ 85 días, ≥ 90 días, ≥ 95 días o ≥ 100 días después de la administración de la primera dosis de la molécula de unión al antígeno, en el modelo relevante.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno de la presente divulgación alcanza un nivel de inhibición del crecimiento tumoral (p. ej., expresado como % de inhibición del crecimiento tumoral, p. ej., calculado en relación con el crecimiento tumoral observado en el tratamiento con una molécula de unión al antígeno de control adecuada) que es mayor que 1 vez, p. ej., uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces el nivel de inhibición del crecimiento tumoral observado en el mismo punto temporal en ausencia de tratamiento con la molécula de unión al antígeno (o después del tratamiento con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no influye en el crecimiento tumoral), en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la evaluación de la inhibición del crecimiento del tumor para los fines de dicha comparación se realiza después de más de 5 días, por ejemplo, uno de ≥ 10 días, ≥ 15 días, ≥ 20 días, ≥ 25 días, ≥ 30 días, ≥ 35 días, ≥ 40 días, ≥ 35 días, ≥ 50 días, ≥ 55 días, ≥ 60 días, ≥ 65 días, ≥ 70 días, ≥ 75 días, ≥ 80 días, ≥ 85 días, ≥ 90 días, ≥ 95 días o ≥ 100 días después de la administración de la primera dosis de la molécula de unión al antígeno, en el modelo relevante.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno de la presente divulgación es capaz de aumentar la supervivencia media de sujetos que tienen un cáncer (p. ej., en un modelo in vivo, p. ej., de un cáncer que expresa HER3) a más de 1 vez, p. ej., uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces la supervivencia media observada en ausencia de tratamiento con la molécula de unión al antígeno (o después del tratamiento con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no influye en la supervivencia de los sujetos que tienen el cáncer), en un ensayo determinado. La supervivencia media puede expresarse en días desde el inicio del experimento, para los sujetos de los grupos de tratamiento pertinentes.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no muestra una unión sustancial mediada por Fc a las PBMC, por ejemplo, las PBMC humanas. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no muestra una unión sustancial a los receptores Fcγ humanos (por ejemplo, FcγRIA, FcγRIIA y/o FcγRIIIA). Dicha unión puede determinarse, por ejemplo, mediante técnicas de resonancia de plasmones superficiales o de fluorescencia, como se describe en este documento.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación es capaz de internalizarse en células que expresan HER3, por ejemplo, en los lisosomas de dichas células. Dicha internalización puede determinarse, por ejemplo, mediante técnicas de imágenes basadas en fluorescencia como las descritas en este documento.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no muestra una captación dependiente de macropinocitosis sustancial por parte de los megacariocitos. La captación dependiente de macropinocitosis se puede determinar, por ejemplo, mediante técnicas de imágenes de células vivas basadas en fluorescencia, como se describe en este documento.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no induce leucopenia sustancial (es decir, reducción en la cantidad/proporción de glóbulos blancos en la sangre periférica) después de la administración a un sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no induce neutropenia sustancial (es decir, reducción en la cantidad/proporción de neutrófilos en la sangre periférica) después de la administración a un sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no induce trombocitopenia sustancial (es decir, reducción en la cantidad/proporción de plaquetas en la sangre periférica) después de la administración a un sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no induce anemia sustancial (es decir, reducción en la cantidad/proporción de glóbulos rojos en la sangre periférica) después de la administración a un sujeto.

Se puede evaluar una molécula de unión al antígeno para determinar si induce leucopenia, neutropenia, trombocitopenia y/o anemia midiendo la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica después de la administración de la molécula de unión al antígeno a un sujeto. Dicha evaluación puede comprender la recolección de una muestra de sangre del sujeto después de la administración de la molécula de unión al antígeno al sujeto. Se valorará que la evaluación se realice después de un período de tiempo suficiente para que se pueda observar leucopenia/neutropenia/trombocitopenia/anemia. La medición de la cantidad/proporción de un tipo de célula determinado se puede realizar mediante cualquier medio adecuado, por ejemplo, mediante citometría de flujo después del marcaje basado en anticuerpos de biomarcadores celulares capaces de distinguir células sanguíneas de diferentes tipos.

Una molécula de unión al antígeno que no induce sustancialmente leucopenia/neutropenia/trombocitopenia/anemia puede ser una molécula de unión al antígeno para la cual no se observa una reducción sustancial en la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica después de la administración de la molécula de unión al antígeno, en comparación con la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica de un sujeto no tratado con la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto tratado con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que

no induce leucopenia/neutropenia/trombocitopenia/anemia.

En algunas modalidades, la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces la cantidad/proporción de dichas células observadas en la sangre periférica de un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no induce leucopenia/neutropenia/trombocitopenia/anemia. En algunas modalidades, la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces, $\geq 0,6$ veces, $\geq 0,65$ veces, $\geq 0,7$ veces, $\geq 0,75$ veces, $\geq 0,8$ veces, $\geq 0,85$ veces, $\geq 0,9$ veces o $\geq 0,95$ veces la cantidad/proporción de dichas células observadas en la sangre periférica de un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no induce leucopenia/neutropenia/trombocitopenia/anemia.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no induce enfermedad pulmonar intersticial sustancial después de la administración a un sujeto.

Se puede evaluar una molécula de unión al antígeno para determinar si induce enfermedad pulmonar intersticial evaluando a un sujeto para uno o más correlatos de enfermedad pulmonar intersticial (por ejemplo, fibrosis del tejido del pulmón, deposición de matriz extracelular en el tejido del pulmón, expresión de genes profibroinflamatorios en el tejido del pulmón) después de la administración de la molécula de unión al antígeno al sujeto. Dicha evaluación puede comprender la recolección de una muestra de tejido de pulmón después de la administración de la molécula de unión al antígeno al sujeto. Se apreciará que la evaluación se realiza después de un período de tiempo suficiente para que la enfermedad pulmonar intersticial haya sido inducida por la administración de la molécula de unión al antígeno.

Una molécula de unión al antígeno que no induce sustancialmente enfermedad pulmonar intersticial puede ser una molécula de unión al antígeno para la cual no se observa un aumento sustancial en el nivel de un correlato de enfermedad pulmonar intersticial después de la administración de la molécula de unión al antígeno, en comparación con el nivel del correlato relevante en un sujeto no tratado con la molécula de unión al antígeno, o el nivel del correlato relevante en un sujeto tratado con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no induce enfermedad pulmonar intersticial.

En algunas modalidades, el nivel de un correlato de enfermedad pulmonar intersticial después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel del correlato relevante en un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en un

sujeto que ha sido tratado con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no induce enfermedad pulmonar intersticial.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no altera sustancialmente la función hepática después de la administración a un sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no muestra hepatotoxicidad sustancial. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no causa daño sustancial a las células del hígado (por ejemplo, hepatocitos) y/o al tejido hepático. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no altera sustancialmente la función renal después de la administración a un sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no muestra nefrotoxicidad sustancial. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no causa daño sustancial a las células renales y/o al tejido renal. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación no altera sustancialmente la función pulmonar después de la administración a un sujeto. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no muestra toxicidad pulmonar sustancial. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno no causa daño sustancial a las células pulmonares y/o al tejido pulmonar.

Se puede evaluar una molécula de unión al antígeno para determinar si afecta la función hepática, renal o pulmonar midiendo los correlatos de la función hepática, renal o pulmonar después de la administración de la molécula de unión al antígeno a un sujeto. Dicha evaluación puede comprender la recolección de una muestra de sangre del sujeto después de la administración de la molécula de unión al antígeno al sujeto. Se valorará que la evaluación se realice después de un período de tiempo suficiente para que se pueda observar deterioro de la función hepática/renal/pulmonar. El deterioro de la función hepática puede determinarse mediante la detección de un aumento en el nivel de una transaminasa hepática (como la aspartato transaminasa (AST) y/o la alanina transaminasa (ALT)) en la sangre periférica, en relación con el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto no tratado con la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto tratado con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función hepática. El deterioro de la función renal se puede determinar mediante la detección de un aumento en el nivel/concentración de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y/o creatinina en la sangre periférica, en relación con el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto no tratado con la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto tratado con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función renal. La función pulmonar puede evaluarse, por ejemplo, mediante espirometría, pletismografía y/o análisis de los niveles de oxígeno en sangre. El deterioro de la función pulmonar puede determinarse mediante la detección de una reducción en uno o más de los siguientes, en relación con el nivel mostrado por un sujeto no tratado con la molécula de unión al antígeno, o un sujeto tratado con una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función pulmonar: nivel de oxígeno en sangre, volumen corriente (VT), volumen minuto (VM), capacidad vital (VC), capacidad residual funcional (FRC), capacidad pulmonar total, capacidad vital forzada (FVC), volumen espiratorio forzado (FEV), flujo espiratorio forzado (FEF) y/o tasa de flujo espiratorio máximo (PEFR).

En algunas modalidades, el nivel de un correlato de deterioro de la función hepática (por ejemplo, AST y/o ALT) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces,

$\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función hepática. En algunas modalidades, el nivel de un correlato de deterioro de la función hepática (por ejemplo, AST y/o ALT) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\leq 1,9$ veces, $\leq 1,8$ veces, $\leq 1,7$ veces, $\leq 1,6$ veces, $\leq 1,5$ veces, $\leq 1,4$ veces, $\leq 1,3$ veces, $\leq 1,2$ veces o $\leq 1,1$ veces el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función hepática.

En algunas modalidades, el nivel/concentración de un correlato de deterioro de la función renal (por ejemplo, BUN y/o creatinina) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel/concentración observado en la sangre periférica de un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función renal. En algunas modalidades, el nivel/concentración de un correlato de deterioro de la función renal (por ejemplo, BUN y/o creatinina) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\leq 1,9$ veces, $\leq 1,8$ veces, $\leq 1,7$ veces, $\leq 1,6$ veces, $\leq 1,5$ veces, $\leq 1,4$ veces, $\leq 1,3$ veces, $\leq 1,2$ veces o $\leq 1,1$ veces el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en la sangre periférica de un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función renal.

En algunas modalidades, el nivel de un correlato de la función pulmonar en un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel del correlato observado en un sujeto al que no se le ha administrado la molécula de unión al antígeno, o en un sujeto al que se le ha administrado una molécula de unión al antígeno de control apropiada que se sabe que no deteriora la función pulmonar.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación posee una o más propiedades funcionales nuevas, similares o mejoradas en comparación con un conjugado de fármaco-anticuerpo anti-HER3 conocido. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno posee una o más propiedades funcionales nuevas, similares o mejoradas en comparación con Patritumab-DXd (U3-1402). Patritumab-DXd (también conocido como U3-1402; FDA UNII: 3XPI7EG4W8) se describe, por ejemplo, en la DCI propuesta: Lista 121,

Información sobre medicamentos de la OMS (2019) 33(2):314-316. Comprende el anticuerpo monoclonal que se une a HER3, Patritumab, conjugado a través de un enlazador tetrapéptido maleimida-Gly-Gly-Phe-Gly escindible al inhibidor de la ADN topoisomerasa I deruxtecan (DX-8951), con una relación fármaco-anticuerpo (DAR) de 8.

En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno descrita en este documento puede mostrar una o más de las siguientes:

unión similar o aumentada a las células que expresan HER3, en comparación con la unión a dichas células mostrada por Patritumab-DXd;

aumento de la unión a las células que expresan HER3 en presencia de NRG1, en comparación con la unión a dichas células mostrada por Patritumab-DXd;

inhibición similar o aumentada de la proliferación de células que expresan HER3, en comparación con la inhibición de la proliferación de dichas células mostrada por Patritumab-DXd;

muerte similar o mayor de células que expresan HER3, en comparación con la muerte de dichas células mostrada por Patritumab-DXd;

inhibición similar o aumentada del crecimiento del tumor y/o reducción del tamaño/volumen del tumor (por ejemplo, de un cáncer que expresa HER3), en comparación con la inhibición del crecimiento del tumor/reducción del tamaño/volumen del tumor mostrada por Patritumab-DXd; supervivencia similar o aumentada de sujetos que tienen un cáncer (por ejemplo, un cáncer que expresa HER3) después del tratamiento con la molécula de unión al antígeno, en comparación con la supervivencia observada después del tratamiento con Patritumab-DXd;

unión mediada por Fc similar o disminuida a PBMC humanos, en comparación con la unión mediada por Fc mostrada por Patritumab-DXd;

internalización similar o mayor en células que expresan HER3, en comparación con la internalización mostrada por Patritumab-DXd;

captación dependiente de macropinocitosis similar o disminuida por los megacariocitos, en comparación con la captación dependiente de macropinocitosis por Patritumab-DXd;

toxicidad similar o reducida, en comparación con Patritumab-DXd;

inducción de leucopenia similar o reducida, en comparación con Patritumab-DXd;

inducción de neutropenia similar o reducida, en comparación con Patritumab-DXd;

inducción de anemia similar o reducida, en comparación con Patritumab-DXd;

inducción de trombocitopenia similar o reducida, en comparación con Patritumab-DXd;

inducción similar o reducida de enfermedad pulmonar intersticial, en comparación con Patritumab-DXd;

deterioro similar o reducido de la función hepática, en comparación con Patritumab-DXd;

deterioro similar o reducido de la función renal, en comparación con Patritumab-DXd;

y/o deterioro similar o reducido de la función pulmonar, en comparación con Patritumab-DXd.

De acuerdo con el párrafo anterior, un nivel de una propiedad/resultado dado que es «similar a» un nivel de referencia puede ser $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel de referencia. En algunas modalidades, un nivel de una propiedad/resultado determinado que se «incrementa» en relación con un nivel de referencia puede ser mayor que 1

vez, por ejemplo, uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces o ≥ 5 veces el nivel de referencia.

Se reconocerá que, a los efectos de dichas evaluaciones, se pueden comparar cantidades equivalentes de la molécula de unión al antígeno y de Patritumab-DXd. En algunas modalidades, se comparan cantidades equivalentes de las respectivas cargas útiles. Es decir, en algunas modalidades, para los fines de dichas evaluaciones, se comparan cantidades de la molécula de unión al antígeno y Patritumab-DXd de manera tal que la cantidad de exatecán y deruxtecán sea equivalente.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación se une a las células que expresan HER3 (por ejemplo, en presencia de NRG1) con una EC_{50} que es similar o menor que la EC_{50} con la que Patritumab-DXd se une a las células relevantes, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la EC_{50} para la unión de la molécula de unión al antígeno a las células que expresan HER3 es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, una de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces la EC_{50} para la unión de Patritumab-DXd a células del mismo tipo, como se determina en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la EC_{50} para la unión de la molécula de unión al antígeno a las células que expresan HER3 es menor de 1 vez, por ejemplo, $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces o $\leq 0,01$ veces la EC_{50} para la unión de Patritumab-DXd a células del mismo tipo, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente descripción inhibe la proliferación de células que expresan HER3 (por ejemplo, células cancerosas que expresan HER3) con una IC_{50} similar o menor que la IC_{50} con la que Patritumab-DXd inhibe la proliferación de las células relevantes, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno inhibe la proliferación de células que expresan HER3 (por ejemplo, células cancerosas que expresan HER3) con una IC_{50} que es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, p. ej., uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces la IC_{50} para la inhibición de la proliferación de células del mismo tipo por Patritumab-DXd, como se determinó en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la IC_{50} para la inhibición de la proliferación de células que expresan HER3 (por ejemplo, células cancerosas que expresan HER3) para la molécula de unión al antígeno es menor de 1 vez, por ejemplo, $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces o $\leq 0,01$ veces la IC_{50} para la inhibición de la proliferación de células del mismo tipo mediante Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación aumenta la muerte de células que expresan HER3 a un nivel que es similar o mayor que el nivel de muerte de las células relevantes mostrado por Patritumab-DXd, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno aumenta la muerte de células que expresan HER3 (por ejemplo, células cancerosas

que expresan HER3) con un nivel que es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, p. ej., uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel de muerte celular de las células relevantes mostrado por Patritumab-DXd, como se determinó en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno aumenta la muerte de células que expresan HER3 (por ejemplo, células cancerosas que expresan HER3) a un nivel que es mayor que 1 vez, p. ej. uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces el nivel de muerte celular de las células relevantes mostrado por Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación reduce el tamaño/volumen del tumor a un nivel que es similar o mayor que el nivel de reducción en el tamaño/volumen del tumor observado después del tratamiento con Patritumab-DXd, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno es capaz de reducir el tamaño/volumen del tumor (p. ej., el tamaño/volumen medio del tumor para el grupo de tratamiento en un modelo in vivo, p. ej., de un cáncer que expresa HER3) a un nivel que es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, p. ej., uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el tamaño/volumen del tumor observado en el mismo punto temporal después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno es capaz de reducir el tamaño/volumen del tumor (p. ej., el tamaño/volumen medio del tumor para el grupo de tratamiento en un modelo in vivo, p. ej., de un cáncer que expresa HER3) a menos de 1 vez, p. ej., $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces, o $\leq 0,01$ veces el tamaño/volumen del tumor observado en el mismo punto temporal después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la evaluación del tamaño/volumen del tumor para los fines de dicha comparación se realiza después de más de 5 días, por ejemplo, uno de ≥ 10 días, ≥ 15 días, ≥ 20 días, ≥ 25 días, ≥ 30 días, ≥ 35 días, ≥ 40 días, ≥ 45 días, ≥ 50 días, ≥ 55 días, ≥ 60 días, ≥ 65 días, ≥ 70 días, ≥ 75 días, ≥ 80 días, ≥ 85 días, ≥ 90 días, ≥ 95 días o ≥ 100 días después de la administración de la primera dosis de la molécula de unión al antígeno, en el modelo relevante.

En algunas modalidades, la molécula de unión a antígeno de la presente divulgación logra un nivel de inhibición del crecimiento tumoral que es similar o mayor que la inhibición del crecimiento tumoral observada después del tratamiento con Patritumab-DXd, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno alcanza un nivel de inhibición del crecimiento tumoral (p. ej., expresado como % de inhibición del crecimiento tumoral, p. ej., calculado en relación con el crecimiento tumoral observado en el tratamiento con una molécula de unión al antígeno de control adecuada) que es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, p. ej., uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel de inhibición del crecimiento tumoral

observado en el mismo punto temporal después del tratamiento con Patritumab-DXd, como se determinó en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno alcanza un nivel de inhibición del crecimiento tumoral (p. ej., expresado como % de inhibición del crecimiento tumoral, p. ej., calculado en relación con el crecimiento tumoral observado en el tratamiento con una molécula de unión al antígeno de control adecuada) que es mayor que 1 vez, p. ej., uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces el nivel de inhibición del crecimiento tumoral observado en el mismo punto temporal después del tratamiento con Patritumab-DXd, según se determina en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la evaluación del tamaño/volumen del tumor para los fines de dicha comparación se realiza después de más de 5 días, por ejemplo, uno de ≥ 10 días, ≥ 15 días, ≥ 20 días, ≥ 25 días, ≥ 30 días, ≥ 35 días, ≥ 40 días, ≥ 35 días, ≥ 50 días, ≥ 55 días, ≥ 60 días, ≥ 65 días, ≥ 70 días, ≥ 75 días, ≥ 80 días, ≥ 85 días, ≥ 90 días, ≥ 95 días o ≥ 100 días después de la administración de la primera dosis de la molécula de unión al antígeno, en el modelo relevante.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación logra un aumento en la supervivencia media de sujetos que tienen un cáncer (por ejemplo, en un modelo in vivo, por ejemplo, de un cáncer que expresa HER3) que es similar o mayor que el aumento en la supervivencia media observado después del tratamiento con Patritumab-DXd, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno logra un aumento en la supervivencia media de sujetos que tienen un cáncer (p. ej., en un modelo in vivo, p. ej., de un cáncer que expresa HER3) que es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, p. ej., uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel de aumento en la supervivencia media observado después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno logra un aumento en la supervivencia media de sujetos que tienen un cáncer (p. ej., en un modelo in vivo, p. ej., de un cáncer que expresa HER3) que es mayor que 1 vez, p. ej., uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces la supervivencia media observada después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. La supervivencia media puede expresarse en días desde el inicio del experimento, para los sujetos de los grupos de tratamiento pertinentes.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación muestra una unión mediada por Fc similar o disminuida a las PBMC humanas, en comparación con la unión mediada por Fc a las PBMC humanas mostrada por Patritumab-DXd. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación se une a PBMC, por ejemplo, PBMC humanas, con un valor de KD que es similar o mayor que el valor de KD con el que Patritumab-DXd se une a las células relevantes, en un ensayo determinado. En algunas modalidades, la KD para la unión de la molécula de unión al antígeno a las PBMC es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, una de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces

la KD para la unión de Patritumab-DXd a células del mismo tipo, como se determina en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la KD para la unión de la molécula de unión al antígeno a las PBMC es mayor que 1 vez, por ejemplo, una de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces la KD para la unión de Patritumab-DXd a PBMC, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno demuestra hasta un 95%, hasta un 94%, hasta un 93%, hasta un 92%, hasta un 91%, 90%, hasta un 89%, hasta un 88%, hasta un 87%, hasta un 86%, hasta un 85%, hasta un 84%, hasta un 83%, hasta un 82%, hasta un 81%, hasta un 80%, hasta un 79%, hasta un 78%, hasta un 77%, hasta un 76%, hasta un 75%, hasta un 74%, hasta un 73%, hasta un 72%, hasta un 71%, hasta un 70%, hasta un 69%, hasta un 68%, hasta un 67%, hasta un 66%, hasta un 65%, hasta un 64%, hasta un 63, hasta un 62%, hasta un 61%, hasta un 60%, hasta un 59%, hasta un 58%, hasta un 57%, hasta un 56%, hasta un 55%, hasta un 54%, hasta un 53%, hasta un 52%, hasta un 51%, hasta un 50%, hasta un 49%, hasta un 48%, hasta un 47%, hasta un 46%, hasta un 45%, hasta un 44%, hasta un 43%, hasta un 42%, hasta un 41%, hasta un 40%, hasta un 39%, hasta un 38%, hasta un 37%, hasta un 36%, hasta un 35%, hasta un 34%, hasta un 33%, hasta un 32%, hasta un 31%, hasta un 30%, hasta un 29%, hasta un 28%, hasta un 27%, hasta un 26%, hasta un 25%, hasta un 24%, hasta un 23%, hasta un 22%, hasta un 21%, hasta un 20%, hasta un 19%, hasta un 18%, hasta un 17%, hasta un 16%, hasta un 15%, hasta un 14%, hasta un 13%, hasta un 12%, hasta un 11%, hasta un 10%, hasta un 9%, hasta un 8%, hasta un 7%, hasta un 6%, o hasta un 5% menos de unión a PBMC, en comparación con la unión de Patritumab-DXd a células del mismo tipo, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación muestra una internalización similar o mayor en las células que expresan HER3, en comparación con la internalización en dichas células mostrada por Patritumab-DXd. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno está internalizada a las células que expresan HER3 hasta un nivel que es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, una de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel de internalización de Patritumab-DXd a células pertinentes, como se determina en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno está internalizada a las células que expresan HER3 hasta un nivel que es mayor que 1 vez, por ejemplo, una de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces el nivel de internalización de Patritumab-DXd a las células pertinentes, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación muestra una captación dependiente de macropinocitosis similar o disminuida por los megacariocitos, en comparación con la captación dependiente de macropinocitosis por Patritumab-DXd. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno demuestra hasta un 95%, hasta un 94%, hasta un 93%, hasta un 92%, hasta un 91%, 90%, hasta un 89%, hasta un 88%, hasta un 87%, hasta un 86%, hasta un 85%, hasta un 84%, hasta un 83%, hasta un 82%, hasta un 81%, hasta un 80%, hasta un 79%, hasta un 78%, hasta un 77%, hasta un 76%, hasta un 75%, hasta un 74%, hasta un

73%, hasta un 72%, hasta un 71%, hasta un 70%, hasta un 69%, hasta un 68%, hasta un 67%, hasta un 66%, hasta un 65%, hasta un 64%, hasta un 63%, hasta un 62%, hasta un 61%, hasta un 60%, hasta un 59%, hasta un 58%, hasta un 57%, hasta un 56%, hasta un 55%, hasta un 54%, hasta un 53%, hasta un 52%, hasta un 51%, hasta un 50%, hasta un 49%, hasta un 48%, hasta un 47%, hasta un 46%, hasta un 45%, hasta un 44%, hasta un 43%, hasta un 42%, hasta un 41%, hasta un 40%, hasta un 39%, hasta un 38%, hasta un 37%, hasta un 36%, hasta un 35%, hasta un 34%, hasta un 33%, hasta un 32%, hasta un 31%, hasta un 30%, hasta un 29%, hasta un 28%, hasta un 27%, hasta un 26%, hasta un 25%, hasta un 24%, hasta un 23%, hasta un 22%, hasta un 21%, hasta un 20%, hasta un 19%, hasta un 18%, hasta un 17%, hasta un 16%, hasta un 15%, hasta un 14%, hasta un 13%, hasta un 12%, hasta un 11%, hasta un 10%, hasta un 9%, hasta un 8%, hasta un 7%, hasta un 6%, o hasta un 5% menos de captación dependiente de macropinocitosis mediante megacariocitos, en comparación con la captación dependiente de macropinocitosis de Patritumab-DXd mediante megacariocitos, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno de la presente divulgación muestra una toxicidad similar o reducida para los sujetos a los que se les administra la molécula de unión al antígeno en comparación con los sujetos a los que se les administra Patritumab-DXd. En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno tiene un perfil toxicológico similar o mejorado en comparación con Patritumab-DXd.

En algunas modalidades, la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces la cantidad/proporción de dichas células observadas después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, la cantidad/proporción de glóbulos blancos/neutrófilos/plaquetas/glóbulos rojos en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es mayor que 1 vez, por ejemplo, uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces, ≥ 9 veces o ≥ 10 veces la cantidad/proporción de dichas células observadas después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, el nivel de un correlato de enfermedad pulmonar intersticial después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel del correlato relevante en un sujeto al que se le ha administrado Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, el nivel de un correlato de enfermedad pulmonar intersticial después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es menor de 1 vez, por ejemplo, $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$

veces o $\leq 0,01$ veces el nivel del correlato relevante en un sujeto al que se le ha administrado Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, el nivel de un correlato de deterioro de la función hepática (por ejemplo, AST y/o ALT) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, el nivel de un correlato de deterioro de la función hepática (por ejemplo, AST y/o ALT) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es menor de 1 vez, por ejemplo, $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces o $\leq 0,01$ veces el nivel observado en la sangre periférica de un sujeto después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, el nivel/concentración de un correlato de deterioro de la función renal (por ejemplo, BUN y/o creatinina) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel/concentración observado en la sangre periférica de un sujeto después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, el nivel/concentración de un correlato de deterioro de la función renal (por ejemplo, BUN y/o creatinina) en la sangre periférica de un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es menor de 1 vez, por ejemplo, $\leq 0,99$ veces, $\leq 0,95$ veces, $\leq 0,9$ veces, $\leq 0,85$ veces, $\leq 0,8$ veces, $\leq 0,75$ veces, $\leq 0,7$ veces, $\leq 0,65$ veces, $\leq 0,6$ veces, $\leq 0,55$ veces, $\leq 0,5$ veces, $\leq 0,45$ veces, $\leq 0,4$ veces, $\leq 0,35$ veces, $\leq 0,3$ veces, $\leq 0,25$ veces, $\leq 0,2$ veces, $\leq 0,15$ veces, $\leq 0,1$ veces, $\leq 0,05$ veces o $\leq 0,01$ veces el nivel/concentración observado en la sangre periférica de un sujeto después del tratamiento con Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo.

En algunas modalidades, el nivel de un correlato de la función pulmonar en un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es $\geq 0,5$ veces y ≤ 2 veces, por ejemplo, uno de $\geq 0,55$ veces y $\leq 1,9$ veces, $\geq 0,6$ veces y $\leq 1,8$ veces, $\geq 0,65$ veces y $\leq 1,7$ veces, $\geq 0,7$ veces y $\leq 1,6$ veces, $\geq 0,75$ veces y $\leq 1,5$ veces, $\geq 0,8$ veces y $\leq 1,4$ veces, $\geq 0,85$ veces y $\leq 1,3$ veces, $\geq 0,9$ veces y $\leq 1,2$ veces o $\geq 0,95$ veces y $\leq 1,1$ veces el nivel del correlato relevante en un sujeto al que se le ha administrado Patritumab-DXd, según lo determinado en el mismo ensayo. En algunas modalidades, el nivel de un correlato de la función pulmonar en un sujeto después de la administración de una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación es mayor que 1 vez, por ejemplo, uno de $\geq 1,01$ veces, $\geq 1,02$ veces, $\geq 1,03$ veces, $\geq 1,04$ veces, $\geq 1,05$ veces, $\geq 1,1$ veces, $\geq 1,2$ veces, $\geq 1,3$ veces, $\geq 1,4$ veces, $\geq 1,5$ veces, $\geq 1,6$ veces, $\geq 1,7$ veces, $\geq 1,8$ veces, $\geq 1,9$ veces, ≥ 2 veces, ≥ 3 veces, ≥ 4 veces, ≥ 5 veces, ≥ 6 veces, ≥ 7 veces, ≥ 8 veces,

≥ 9 veces o ≥ 10 veces el nivel del correlato relevante en un sujeto al que se le ha administrado Patritumab-DXd, según se determinó en el mismo ensayo.

Producción de moléculas de unión al antígeno

Las moléculas de unión al antígeno según la presente divulgación pueden prepararse de acuerdo con métodos para la producción de conjugados anticuerpo-fármaco conocidos por el experto en la materia.

Las fracciones de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación se pueden preparar mediante síntesis química, por ejemplo, síntesis en fase líquida o sólida. Por ejemplo, los péptidos/polipéptidos pueden sintetizarse utilizando los métodos descritos en, por ejemplo, Chandrudu et ál., *Molecules* (2013), 18: 4373-4388, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

Alternativamente, las fracciones de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación pueden producirse mediante expresión recombinante. Las técnicas de biología molecular adecuadas para la producción recombinante de polipéptidos son bien conocidas en la técnica, como las establecidas en Green y Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (4.^a edición), Cold Spring Harbor Press, 2012, y en *Nat Methods*. (2008); 5(2): 135-146, ambos incorporados al presente documento como referencia en su totalidad. Los métodos para la producción recombinante de polipéptidos de unión al antígeno también se describen en Frenzel et ál., *Front Immunol*. (2013); 4: 217 y Kunert y Reinhart, *Appl Microbiol Biotechnol*. (2016) 100: 3451–3461, ambos incorporados a la presente como referencia en su totalidad.

En algunos casos, las fracciones de unión al antígeno de la presente divulgación están compuestas por más de una cadena polipeptídica. En dichos casos, la producción de la fracción de unión al antígeno puede comprender la transcripción y traducción de más de un polipéptido y la posterior asociación de las cadenas polipeptídicas para formar la fracción de unión al antígeno.

Para la producción recombinante de acuerdo con la presente divulgación, se puede utilizar cualquier célula adecuada para la expresión de polipéptidos. La célula puede ser procariota o eucariota. En algunas modalidades, la célula es una célula procariota, tal como una célula de arqueas o bacterias. En algunas modalidades, las bacterias pueden ser bacterias Gram-negativas tales como bacterias de la familia Enterobacteriaceae, por ejemplo, *Escherichia coli*. En algunas modalidades, la célula es una célula eucariota tal como una célula de levadura, una célula vegetal, una célula de insecto o una célula de mamífero, por ejemplo, una célula descrita anteriormente. En algunos casos, la célula no es una célula procariota porque algunas células procariotas no permiten el mismo plegamiento o modificaciones postraduccionales que las células eucariotas. Además, son posibles niveles de expresión muy elevados en eucariotas y las proteínas pueden purificarse más fácilmente a partir de eucariotas utilizando etiquetas apropiadas. También se pueden utilizar plásmidos específicos que mejoran la secreción de la proteína en el medio.

En algunas modalidades, los polipéptidos pueden prepararse mediante síntesis de proteínas libres de células (CFPS), por ejemplo, de acuerdo con un sistema descrito en Zemella et ál. *Chembiochem* (2015) 16(17): 2420-2431, que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

La producción de fracciones de unión al antígeno puede implicar el cultivo o la fermentación de una célula eucariota modificada para expresar el o los polipéptidos de interés. El cultivo o fermentación puede realizarse en un biorreactor provisto de un suministro adecuado de nutrientes, aire/oxígeno y/o factores de crecimiento. Las proteínas secretadas se pueden recolectar dividiendo el medio de cultivo/caldo de fermentación de las células, extrayendo el contenido proteico y separando las

proteínas individuales para aislar los polipéptidos secretados. Las técnicas de cultivo, fermentación y separación son bien conocidas por los expertos en la materia y se describen, por ejemplo, en Green y Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (4.^a edición; incorporada por referencia anteriormente). Los biorreactores incluyen uno o más recipientes en los que se pueden cultivar células. El cultivo en el biorreactor puede ocurrir de manera continua, con un flujo continuo de reactivos hacia el reactor y un flujo continuo de células cultivadas desde el reactor. Alternativamente, el cultivo puede realizarse en lotes. El biorreactor monitorea y controla las condiciones ambientales como el pH, el oxígeno, los caudales de entrada y salida y la agitación dentro del recipiente, de modo que se proporcionen condiciones óptimas para las células que se cultivan.

Después de cultivar las células que expresan el o los polipéptidos, se pueden aislar el o los polipéptidos de interés. Se puede utilizar cualquier método adecuado para separar proteínas de las células conocido en la técnica. Para aislar el polipéptido, puede ser necesario separar las células del medio nutritivo. Si los polipéptidos se secretan de las células, estas pueden separarse mediante centrifugación del medio de cultivo que contiene los polipéptidos de interés secretados. Si los polipéptidos de interés se acumulan dentro de la célula, el aislamiento de la proteína puede comprender centrifugación para separar las células del medio de cultivo celular, tratamiento del sedimento celular con un amortiguador de lisis y disrupción celular, por ejemplo, mediante sonicación, congelación-descongelación rápida o lisis osmótica.

Entonces puede ser deseable aislar el o los polipéptidos de interés del sobrenadante o medio de cultivo, que puede contener otros componentes proteicos y no proteicos. Un enfoque común para separar los componentes proteicos de un sobrenadante o medio de cultivo es mediante precipitación. Las proteínas de diferentes solubilidades se precipitan a diferentes concentraciones de agente precipitante, como el sulfato de amonio. Por ejemplo, a bajas concentraciones de agente precipitante, se extraen proteínas solubles en agua. De esta manera, añadiendo diferentes concentraciones crecientes de agente precipitante, se pueden distinguir proteínas de diferentes solubilidades. Posteriormente se puede utilizar diálisis para eliminar el sulfato de amonio de las proteínas separadas. En la técnica se conocen otros métodos para distinguir diferentes proteínas, por ejemplo, la cromatografía de intercambio iónico y la cromatografía de tamaño. Estos pueden utilizarse como alternativa a la precipitación o pueden realizarse posteriormente a la precipitación.

Una vez que se hayan aislado los polipéptidos de interés del cultivo, puede ser deseable o necesario concentrarlos. En la técnica se conocen varios métodos para concentrar proteínas, como la ultrafiltración o la liofilización.

Las fracciones de unión al antígeno, según la presente divulgación, pueden conjugarse con fracciones de carga útil del enlazador, según la presente divulgación, para la producción de moléculas de unión al antígeno, según la presente divulgación, mediante cualquier técnica adecuada, bien conocida por el experto en la materia y empleada habitualmente en la técnica. Dichos métodos se describen, por ejemplo, en Chudasama et ál., *Nature Chemistry*, (2016), 8:114-119; Baah et ál., *Molecules*. (2021) 26(10): 2943; y Walsh et ál., *Chem. Soc. Rev.* (2021) 50:1305-1353, todos los cuales se incorporan a la presente como referencia en su totalidad.

La conjugación de fracciones de unión al antígeno y fracciones de carga útil del enlazador y la purificación de moléculas de unión al antígeno producidas por dicha conjugación se pueden realizar, por ejemplo, como se describe en Beck et ál., (2017) *Nat Rev Drug Discov* 16: 315-337; Peters y Brown *Biosci Rep* (2015) 35: art:e00225; McCombs y Owen, *The AAPS Journal* (2015) 17: 339-351; Jackson, *Org Process Res*

Dev (2016) 20: 852-866; o Olivier y Hurvitz, Antibody-Drug Conjugates: Fundamentals, Drug Development, and Clinical, (2016) Wiley. En modalidades preferidas, las moléculas de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación se pueden generar utilizando conjugación empleando química de clic sin metales.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a un polipéptido de la fracción de unión al antígeno. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a más de un polipéptido (por ejemplo, dos polipéptidos) de la fracción de unión al antígeno.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a la región CH2 de una fracción de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a cada región CH2 de una fracción de unión al antígeno. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a la región CH2-CH3 de una fracción de unión al antígeno. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a cada región CH2-CH3 de una fracción de unión al antígeno. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a la región Fc de una fracción de unión al antígeno. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador está conjugada a cada región CH2-CH3 de una región Fc de una fracción de unión al antígeno.

En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador se conjuga con la fracción de unión al antígeno a través del enlace en N297 (numeración UE) de la región Fc/región CH2-CH3/región CH2. En algunas modalidades, la fracción de carga útil del enlazador se conjuga mediante enlace a un N-glicano en N297 (numeración UE) de la región Fc/región CH2-CH3/región CH2.

En algunas modalidades, la conjugación se realiza mediante la reacción de un grupo azido en la fracción de unión al antígeno con una fracción biciclo[6.1.0]nonina (BCN) en la fracción de carga útil del enlazador.

En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende una fracción de carbohidrato que comprende un grupo azido. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende un glicano (por ejemplo, un N-glicano) que comprende un grupo azido. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende un glicano (por ejemplo, un N-glicano) que comprende una fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina (es decir, 6-azido-GalNAc). En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende una región CH2/CH2-CH3/Fc que comprende un N-glicano que comprende un residuo de 6-azido-GalNAc. En algunas modalidades, la fracción de unión al antígeno comprende una región CH2/CH2-CH3/Fc que comprende un N-glicano en N297 (numeración UE) que comprende un residuo de 6-azido-GalNAc.

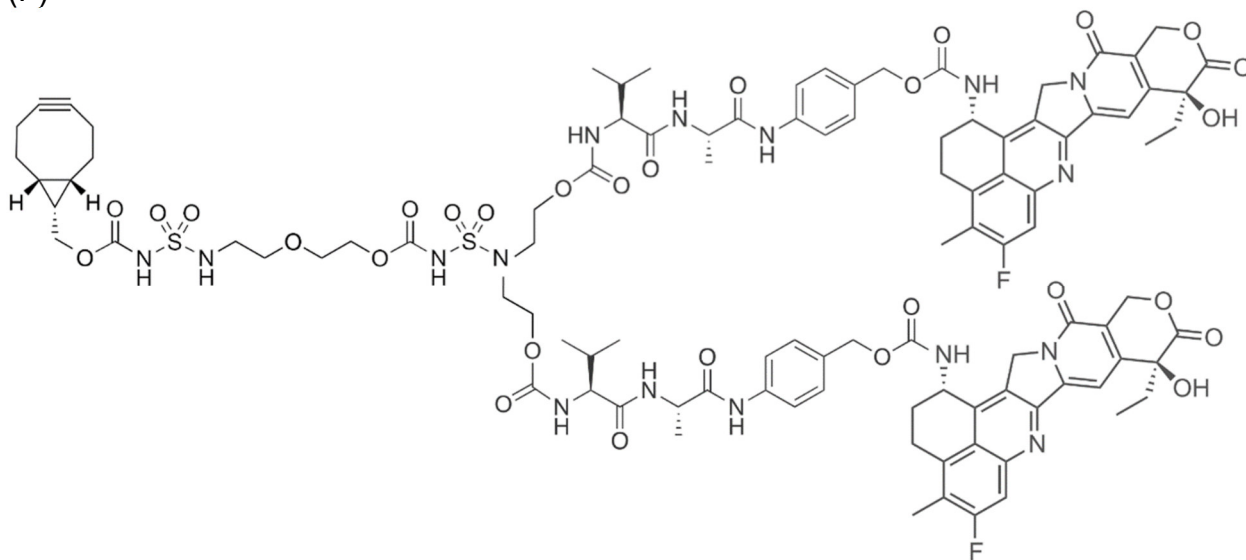
En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación se produce mediante un método que emplea la tecnología GlycoConnect, que se describe, por ejemplo, en van Geel et ál., Bioconjug Chem. (2015) 26(11):2233-2242 y WO 2021/015622 A1, ambos incorporados por la presente como referencia en su totalidad. En algunas modalidades, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación se produce esencialmente como se describe en van Geel et ál., Bioconjug Chem. (2015) 26(11):2233-2242.

En modalidades preferidas, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación se puede producir como se describe en WO 2022/058395 A1, que se incorpora por referencia anteriormente. En particular, una molécula de unión al antígeno según la presente divulgación se puede producir como se describe en los párrafos [0137] a [0174] del documento WO 2022/058395 A1, que se incorporan

específicamente por referencia. De acuerdo con dichos métodos descritos en WO 2022/058395 A1, se apreciará que 'AB' como se menciona en los párrafos [0137] a [0174] de WO 2022/058395 A1 es una fracción de unión al antígeno como se describe en este documento.

En algunas modalidades, el método comprende poner en contacto una fracción de unión al antígeno que comprende una fracción azido con un compuesto que tiene la estructura (F):

(F)



En algunas modalidades, el método comprende:

- (i) poner en contacto una fracción de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación que comprende una región CH2/región CH2-CH3/región Fc con una endoglicosidasa, una galactosiltransferasa y un donante de fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina, y
- (ii) poner en contacto el producto del paso (i) con un compuesto que tiene la estructura (F).

En algunas modalidades, la endoglicosidasa es una endoglicosidasa descrita en el documento WO 2017/137459 A1 (incorporada a la presente como referencia en su totalidad), por ejemplo, EndoSH, EndoS2 o EndoS como se describe en WO 2017/137459 A1.

En algunas modalidades, la galactosiltransferasa es una galactosiltransferasa descrita en Boeggeman et al., Protein Expression and Purification (2003), 30(2):219-229 (incorporada a la presente como referencia en su totalidad), por ejemplo, β 1,4-galactosiltransferasa (EC 2.4.1.38), o β 1,4-galactosiltransferasa que comprende la sustitución de aminoácido Y289L.

Se reconocerá que un 'donante de fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina' se refiere a un compuesto capaz de servir como donante para una fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina. En el contexto de la presente divulgación, el donante de la fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina sirve como donante para producir una molécula de unión al antígeno que comprende una fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina, para la conjugación posterior de una fracción de carga útil del enlazador (por ejemplo, a través de la reacción con una fracción de carga útil del enlazador que comprende una fracción BCN). En algunas modalidades, el donante de la fracción 6-azido-6-desoxi-N-acetilgalactosamina es 6-azido-6-desoxi-UDP-N-acetilgalactosamina (es decir, UDP-6-azido-GalNAc) (véase, por ejemplo, Mayer et al., Bioorg Med Chem Lett (2011) 21(4):1199-201).

En algunas modalidades, el método comprende además purificar/aislar la molécula de unión al antígeno (es decir, de precursores y/o subproductos no reaccionados). En algunas modalidades, la molécula de unión al antígeno puede purificarse/aislarse mediante cromatografía, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño.

En algunas modalidades, una molécula de unión a antígeno según la presente divulgación se produce esencialmente como se describe en el Ejemplo 2 de la presente. En algunas modalidades, la conjugación de una fracción de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación con una fracción de carga útil del enlazador de acuerdo con la presente divulgación se realiza esencialmente como se describe en el Ejemplo 2.3 de la presente.

Composiciones

La presente divulgación proporciona una composición que comprende una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación.

Las moléculas de unión al antígeno descritas en este documento pueden formularse como composiciones farmacéuticas o medicamentos para uso clínico y pueden comprender un portador, diluyente, excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Por tanto, la presente divulgación proporciona una composición/medicamento farmacéutico que comprende una molécula de unión al antígeno descrita en la presente.

Las composiciones farmacéuticas/medicamentos de la presente divulgación pueden comprender uno o más portadores farmacéuticamente aceptables (p. ej., liposomas, micelas, microesferas, nanopartículas), diluyentes/excipientes (p. ej., almidón, celulosa, un derivado de celulosa, un poliol, dextrosa, maltodextrina, estearato de magnesio), adyuvantes, rellenos, amortiguadores, conservantes (p. ej., vitamina A, vitamina E, vitamina C, palmitato de retinilo, selenio, cisteína, metionina, ácido cítrico, citrato de sodio, metilparabeno, propilparabeno), antioxidantes (p. ej., vitamina A, vitamina E, vitamina C, palmitato de retinilo, selenio), lubricantes (p. ej., estearato de magnesio, talco, sílice, ácido esteárico, estearina vegetal), aglutinantes (p. ej., sacarosa, lactosa, almidón, celulosa, gelatina, polietilenglicol (PEG), polivinilpirrolidona (PVP), xilitol, sorbitol, manitol), estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes enmascaradores o colorantes (por ejemplo, óxido de titanio).

La expresión «farmacéuticamente aceptable» como se usa en este documento, se refiere a compuestos, ingredientes, materiales, composiciones, formas farmacéuticas que, según el criterio médico razonable, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, un ser humano) sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, con una correspondiente relación riesgo-beneficio razonable. Cada portador, diluyente, excipiente, adyuvante, relleno, amortiguador, conservante, antioxidante, lubricante, aglutinante, estabilizador, solubilizante, tensioactivo, agente enmascarador, agente colorante, agente aromatizante o agente edulcorante de una composición según la presente divulgación también debe ser «aceptable» en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación. Se pueden encontrar portadores, diluyentes, excipientes, adyuvantes, rellenos, amortiguadores, conservantes, antioxidantes, lubricantes, aglutinantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos, agentes enmascaradores, colorantes, aromatizantes o edulcorantes adecuados en textos farmacéuticos estándar, por ejemplo, Remington's 'The Science and Practice of Pharmacy' (Ed. A. Adejare), 23.^a edición (2020), Academic Press.

Las composiciones farmacéuticas y los medicamentos de la presente divulgación pueden formularse para las vías de administración tópica, parenteral, sistémica,

intracavitaria, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal, intraocular, intraconjuntival, intratumoral, subcutánea, intradérmica, intratecal, oral o transdérmica. En algunas modalidades, una composición/medicamento farmacéutico puede formularse para administración por inyección o infusión, o administración por ingestión.

Las formulaciones adecuadas pueden comprender la molécula de unión al antígeno proporcionada en un medio estéril o isotónico. Los medicamentos y composiciones farmacéuticas pueden formularse en forma fluida, incluso en forma de gel. Las formulaciones fluidas pueden formularse para su administración mediante inyección o infusión (por ejemplo, a través de un catéter) en una región seleccionada del cuerpo humano o animal.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas/medicamentos se formulan para inyección o infusión, por ejemplo, en un vaso sanguíneo, tejido/órgano de interés o un tumor.

La presente divulgación también proporciona métodos para la producción de composiciones farmacéuticamente útiles, dichos métodos de producción pueden comprender uno o más pasos seleccionados de:

producir una molécula de unión al antígeno descrita en este documento;

aislar/purificar una molécula de unión al antígeno descrita en este documento; y/o

mezclar una molécula de unión al antígeno descrita en este documento con un portador, adyuvante, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Por ejemplo, un aspecto adicional de la presente divulgación se relaciona con un método para formular o producir un medicamento o composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad/afección (por ejemplo, una enfermedad/afección descrita en este documento), donde el método comprende formular una composición farmacéutica o medicamento mezclando una molécula de unión al antígeno descrita en este documento con un portador, adyuvante, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aplicaciones terapéuticas y profilácticas

Las moléculas y composiciones de unión al antígeno descritas en este documento encuentran uso en intervenciones terapéuticas y profilácticas para enfermedades, por ejemplo, cánceres.

Se reconocerá que las moléculas y composiciones de unión al antígeno de la presente divulgación se pueden usar para el tratamiento/prevención de cualquier enfermedad/afección que obtendría un beneficio terapéutico o profiláctico de una reducción en el nivel/actividad de HER3, o una reducción en la cantidad o actividad de células que comprenden/expresan HER3.

Por ejemplo, la enfermedad/afección puede ser una enfermedad/afección en la que HER3 o células que expresan/sobreexpresan HER3 están implicadas patológicamente, por ejemplo, una enfermedad/afección en la que un mayor nivel/actividad de HER3, o un aumento en la cantidad/proporción de células que comprenden/expresan HER3 está asociado positivamente con la aparición, desarrollo o progresión de la enfermedad/afección, y/o la gravedad de uno o más síntomas de la enfermedad/afección. En algunas modalidades, un aumento del nivel/actividad de HER3, o un aumento en la cantidad/proporción de células que comprenden/expresan HER3 puede ser un factor de riesgo para la aparición, el desarrollo o la progresión de la enfermedad/afección.

La presente divulgación proporciona una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento para su uso en un método de tratamiento o profilaxis médica. También se proporciona una molécula o composición de unión al antígeno

descrita en este documento para su uso en un método de tratamiento o prevención de un cáncer (por ejemplo, un cáncer descrito en este documento). También se proporciona el uso de una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de un cáncer (por ejemplo, un cáncer descrito en este documento). También se proporciona un método para tratar o prevenir un cáncer (por ejemplo, un cáncer descrito en este documento) en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento.

Los métodos pueden ser eficaces para reducir el desarrollo o la progresión de un cáncer, aliviar los síntomas de un cáncer o reducir la patología de un cáncer. Los métodos pueden ser eficaces para prevenir la progresión del cáncer, por ejemplo, para prevenir el empeoramiento del cáncer o para retardar su ritmo de desarrollo. En algunas modalidades, los métodos pueden conducir a una mejora en el cáncer, por ejemplo, una reducción en los síntomas del cáncer o una reducción en algún otro correlato de la gravedad/actividad del cáncer. En algunas modalidades, los métodos pueden prevenir el desarrollo del cáncer a una etapa posterior (por ejemplo, una etapa crónica o metástasis).

Tal como se utiliza en la presente, un «cáncer» puede ser o comprender cualquier proliferación celular no deseada (o cualquier enfermedad que se manifieste por una proliferación celular no deseada), neoplasia o tumor. El cáncer puede ser benigno o maligno. El cáncer puede ser primario o secundario (metastásico). Una neoplasia o tumor puede ser cualquier crecimiento o proliferación anormal de células y puede localizarse en cualquier tejido. El cáncer puede ser de tejidos/células derivadas, por ejemplo, de la glándula suprarrenal, médula suprarrenal, ano, apéndice, vejiga, sangre, hueso, médula ósea, cerebro, mama, ciego, sistema nervioso central (incluido o excluido el cerebro), cerebelo, cuello uterino, colon, duodeno, endometrio, células epiteliales (por ejemplo, epitelios renales), vesícula biliar, tracto biliar, esófago, células gliales, corazón, íleon, yeyuno, riñón, glándula lagrimal, laringe, hígado, pulmón, linfa, ganglio linfático, linfoblasto, maxilar, mediastino, mesenterio, miometrio, nasofaringe, epiglótis, cavidad oral, ovario, páncreas, glándula parótida, sistema nervioso periférico, peritoneo, pleura, próstata, glándula salival, colon sigmoide, piel, intestino delgado, tejidos blandos, bazo, estómago, testículo, timo, glándula tiroides, lengua, amígdala, tráquea, útero, vulva, glóbulos blancos.

Los tumores a tratar pueden ser tumores del sistema nervioso o no nervioso. Los tumores del sistema nervioso pueden originarse en el sistema nervioso central o periférico, por ejemplo, glioma, meduloblastoma, meningioma, neurofibroma, ependimoma, schwannoma, neurofibrosarcoma, astrocitoma y oligodendroglioma. Los cánceres/tumores del sistema no nervioso pueden originarse en cualquier otro tejido no nervioso; los ejemplos incluyen melanoma, mesotelioma, linfoma, mieloma, leucemia, linfoma no Hodgkin (LNH), linfoma de Hodgkin, leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásico (SMD), linfoma cutáneo de células T (LCCT), leucemia linfocítica crónica (LLC), hepatoma, carcinoma epidermoide, carcinoma de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma tímico, CPCNP, cáncer hematológico y sarcoma.

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que expresan un miembro de la familia EGFR (por ejemplo, HER3, EGFR, HER2 o HER4) y/o células que expresan un ligando para un miembro de la familia EGFR. En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que expresan

un mutante o versión silvestre de un miembro de la familia EGFR (por ejemplo, HER3, EGFR, HER2 o HER4). En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir es un cáncer que es positivo para un miembro de la familia EGFR. En algunas modalidades, el cáncer comprende células que sobreexpresan un miembro de la familia EGFR y/o un ligando para un miembro de la familia EGFR. La sobreexpresión se puede determinar mediante la detección de un nivel de expresión que sea mayor que el nivel de expresión de células no cancerosas/tejido no tumoral equivalente.

La expresión podrá determinarse por cualquier medio adecuado. La expresión puede ser expresión genética o expresión proteica. La expresión genética se puede determinar, por ejemplo, mediante la detección del ARNm que codifica HER3, por ejemplo, mediante PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR). La expresión de proteínas se puede determinar, por ejemplo, mediante métodos basados en anticuerpos, por ejemplo, Western blot, inmunohistoquímica, inmunocitoquímica, citometría de flujo o ELISA.

En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer en el que HER3 está implicado patológicamente. Es decir, en algunas modalidades, el cáncer es un cáncer que es causado o exacerbado por la expresión de HER3, un cáncer para el cual la expresión de HER3 es un factor de riesgo y/o un cáncer para el cual la expresión de HER3 está asociada positivamente con la aparición, desarrollo, progresión, gravedad o metástasis del cáncer. El cáncer puede caracterizarse por la expresión de HER3, por ejemplo, el cáncer puede comprender células (por ejemplo, células de tejido tumoral) que expresan HER3. Es posible denominar a estos cánceres como positivos para HER3. Un cáncer que es «positivo» para HER3 puede ser un cáncer que comprende células que expresan HER3 (por ejemplo, en la superficie celular). Un cáncer que es «positivo» para HER3 puede sobreexpresar HER3.

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que albergan una variante genética (por ejemplo, una mutación) que provoca un aumento de la expresión (gen y/o proteína) y/o actividad de HER3, en relación con células comparables que albergan un alelo de referencia que no comprende la variante genética (por ejemplo, un alelo no mutado o «de tipo silvestre»). La variante genética puede ser o comprender inserción, eliminación, sustitución o translocación/reordenamiento a mayor escala de la secuencia de nucleótidos en relación con el alelo de referencia.

Se puede saber o predecir que una mutación «que resulte en» una mayor expresión de HER3 puede causar, o puede estar asociada con, una mayor expresión genética o proteica de HER3. Se puede saber o predecir que una mutación «que resulte en» una mayor actividad de HER3 puede causar, o puede estar asociada con, una mayor señalización mediada por HER3 y/o una mayor señalización mediada por EGFR. Las mutaciones que resultan en un aumento de la expresión y/o actividad de HER3 pueden denominarse mutaciones «activadoras».

Una mutación que provoca un aumento en la expresión de HER3 puede dar lugar a la expresión de un gen o proteína de HER3 que no se expresa y/o no está codificada por el ácido nucleico genómico de una célula equivalente que no alberga la mutación. Es decir, el HER3 puede ser un neoantígeno que surge como resultado de la mutación y, por lo tanto, la «expresión aumentada» puede deberse a la falta de expresión.

Una mutación que provoca un aumento en la expresión de HER3 puede dar lugar a una mayor expresión de un gen o proteína de HER3 que se expresa y/o está codificada por el ácido nucleico genómico de una célula equivalente que no comprende la mutación. A modo de ilustración, una célula puede comprender una mutación que resulta en un aumento en el nivel de transcripción del ácido nucleico

que codifica HER3 en relación con el nivel de transcripción del ácido nucleico que codifica HER3 por una célula equivalente que no comprende la mutación.

En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de HER3 puede provocar un aumento en la expresión genética de HER3 en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación. En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de HER3 puede provocar un aumento en la expresión proteica de HER3 en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación.

En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de HER3 puede provocar un aumento en el nivel de HER3 en la superficie celular de una célula que comprende la mutación, en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación.

Las células que tienen una expresión aumentada de HER3 en relación con el nivel de expresión de HER3 de una célula de referencia (por ejemplo, como resultado de una mutación) pueden describirse como «que sobreexpresan» HER3 o que tienen una «expresión regulada positivamente» de HER3. Por ejemplo, un cáncer que comprende células que albergan una mutación que resulta en una mayor expresión de HER3 en relación con células equivalentes que carecen de la mutación puede describirse como un cáncer que comprende células que muestran sobreexpresión/expresión regulada positivamente de HER3. En algunas modalidades, la célula de referencia que carece de la mutación puede ser una célula no cancerosa (por ejemplo, de un tipo de célula equivalente) o una célula cancerosa (por ejemplo, de un tipo de cáncer equivalente).

Una mutación que provoca un aumento de la actividad de HER3 puede dar lugar a un aumento de la señalización mediada por HER3 en relación con el nivel de señalización mediada por HER3 de una célula equivalente que no comprende la mutación.

En algunas modalidades, un cáncer que se va a tratar/prevenir de acuerdo con la presente divulgación puede caracterizarse por un aumento en la expresión y/o actividad de HER3 (es decir, expresión de genes y/o proteínas) en un órgano/tejido/sujeto afectado por la enfermedad/afección, por ejemplo, en comparación con un órgano/tejido/sujeto normal (es decir, en ausencia de la enfermedad/afección). En algunas modalidades, las células y/o un tumor de un cáncer que se va a tratar/prevenir pueden caracterizarse por un aumento en la expresión y/o actividad de HER3, por ejemplo, en comparación con el nivel de expresión y/o actividad observado en células no cancerosas/tejido no tumoral equivalente.

Un cáncer con sobreexpresión de HER3 puede sobreexpresar HER3 como consecuencia de la amplificación del gen HER3.

En algunas modalidades, un cáncer que se va a tratar/prevenir de acuerdo con la presente divulgación es un cáncer amplificado por HER3.

La amplificación de HER3 se puede identificar utilizando técnicas bien conocidas en la técnica, como la hibridación in situ. Por ejemplo, la amplificación de HER3 se puede evaluar mediante hibridación in situ con fluorescencia, por ejemplo, como se describe en Chung et ál., *J Gynecol Oncol.* (2019) 30(5): e75. Los cánceres con amplificación de HER3 pueden comprender una proporción de 12q13.2 con respecto al centrómero del cromosoma 12 ≥ 2 , como se determina mediante hibridación in situ.

HER3 y su asociación con el cáncer y su función en él se analizan, por ejemplo, en Mishra, et ál., *Oncol Rev.* (2018) 12(1): 355, Karachaliou et ál., *BioDrugs.* (2017) 31(1):63-73 y Zhang et ál., *Acta Biochimica et Biophysica Sinica* (2016) 48(1): 39–48, todos los cuales se incorporan a la presente como referencia en su totalidad. Mishra, et ál., *Oncol Rev.* (2018) 12(1): 355 también describe una intervención dirigida a HER3 para el tratamiento del cáncer, incluida la terapia con anticuerpos monoclonales anti-

HER3.

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que expresan un ligando para HER3 (por ejemplo, NRG1 y/o NRG2). En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que expresan un nivel de expresión de NRG1 y/o NRG2 que es mayor que el nivel de expresión de células no cancerosas/tejido no tumoral equivalente. El cáncer puede describirse como que comprende células que sobreexpresan NRG1 y/o NRG2.

Las moléculas de unión al antígeno de unión a HER3 descritas en este documento se unen a HER3 con una afinidad extremadamente alta cuando HER3 está unido por NRG (es decir, cuando HER3 se proporciona en la conformación «abierta»), y también cuando HER3 no está unido por NRG (es decir, cuando HER3 se proporciona en la conformación «cerrada»). Por lo tanto, son particularmente útiles para el tratamiento/prevenición de cánceres caracterizados por la expresión/sobreexpresión del ligando HER3, por ejemplo, cánceres/tumores que comprenden células que expresan/sobreexpresan un ligando para HER3.

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que albergan una variante genética (por ejemplo, una mutación) que provoca un aumento de la expresión (gen y/o proteína) de un ligando para HER3, en relación con células comparables que albergan un alelo de referencia que no comprende la variante genética (por ejemplo, un alelo no mutado o «de tipo silvestre»). La variante genética puede ser o comprender inserción, eliminación, sustitución o translocación/reordenamiento a mayor escala de la secuencia de nucleótidos en relación con el alelo de referencia.

Se puede saber o predecir que una mutación «que resulte en» una mayor expresión de un ligando para HER3 puede causar, o puede estar asociada con, una mayor expresión genética o proteica de un ligando para HER3. Las mutaciones que resultan en un aumento de la expresión de un ligando para HER3 pueden denominarse mutaciones «activadoras».

Una mutación que provoca un aumento en la expresión de un ligando para HER3 puede dar lugar a la expresión de un gen o proteína de un ligando para HER3 que no se expresa y/o no está codificada por el ácido nucleico genómico de una célula equivalente que no alberga la mutación. Es decir, el ligando para HER3 puede ser un neoantígeno que surge como resultado de la mutación y, por lo tanto, la «expresión aumentada» puede deberse a la falta de expresión. A modo de ilustración, una célula que comprende la fusión del gen CD74-NRG1 muestra una mayor expresión del polipéptido de fusión CD74-NRG1 codificado por la fusión del gen en relación con las células que carecen de la fusión del gen CD74-NRG1.

Una mutación que provoca un aumento en la expresión de un ligando para HER3 puede dar lugar a una mayor expresión de un gen o proteína de un ligando para HER3 que se expresa y/o está codificada por el ácido nucleico genómico de una célula equivalente que no comprende la mutación. A modo de ilustración, una célula puede comprender una mutación que resulta en un aumento en el nivel de transcripción del ácido nucleico que codifica NRG1 en relación con el nivel de transcripción del ácido nucleico que codifica NRG1 por una célula equivalente que no comprende la mutación. En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de un ligando para HER3 puede provocar un aumento en la expresión genética de un ligando para HER3 en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación. En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de un ligando para HER3 puede provocar un aumento en la expresión proteica de un ligando para HER3 en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación.

En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de un ligando para HER3 puede provocar un aumento en el nivel de un ligando para HER3 en la superficie celular de una célula que comprende la mutación, en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación. En algunas modalidades, una mutación que provoca una mayor expresión de un ligando para HER3 puede provocar un aumento en el nivel de una secreción de un ligando para HER3 de una célula que comprende la mutación, en relación con una célula equivalente que no comprende la mutación.

Las células que tienen una expresión aumentada de un ligando para HER3 en relación con el nivel de expresión del ligando para HER3 de una célula de referencia (por ejemplo, como resultado de una mutación) pueden describirse como «que sobreexpresan» el ligando para HER3 o que tienen una «expresión regulada positivamente» del ligando para HER3. Por ejemplo, un cáncer que comprende células que albergan una mutación que resulta en una mayor expresión de un ligando para HER3 en relación con células equivalentes que carecen de la mutación puede describirse como un cáncer que comprende células que muestran sobreexpresión/expresión regulada positivamente del ligando para HER3. En algunas modalidades, la célula de referencia que carece de la mutación puede ser una célula no cancerosa (por ejemplo, de un tipo de célula equivalente) o una célula cancerosa (por ejemplo, de un tipo de cáncer equivalente).

en la presente, un «ligando para HER3» se refiere generalmente a una molécula capaz de unirse a HER3 a través de la región de unión al ligando de HER3 formada por los dominios I y III de HER3. En algunas modalidades, un ligando para HER3 se une a HER3 a través de la interacción con los dominios I y/o III de HER3. Los ligandos ilustrativos para HER3 incluyen neuregulinas como NRG1 y NRG2, que se unen a HER3 a través de la interacción entre sus dominios similares a EGF y la región de unión al ligando de HER3.

El ligando HER3 es preferiblemente capaz de unirse y desencadenar la señalización a través del receptor HER3 y/o complejos de receptores que comprenden HER3. Como quedará claro a partir de la presente divulgación, los complejos de receptores que comprenden HER3 pueden comprender además un socio de interacción para HER3 como se describe en este documento, por ejemplo, HER3, HER2, EGFR, HER4, HGFR, IGF1R y/o cMet.

En algunas modalidades, el ligando para HER3 puede unirse al complejo receptor/receptor HER3 expresado por una célula distinta de la célula que tiene una mayor expresión del ligando HER3. Por ejemplo, en algunas modalidades, el ligando para HER3 puede unirse a una célula cancerosa que expresa HER3.

En algunas modalidades, el ligando para HER3 puede unirse al complejo receptor/receptor HER3 expresado por la célula que tiene una mayor expresión del ligando HER3.

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende (i) células que expresan HER3 y (ii) células que expresan un ligando para HER3 (por ejemplo, que tienen una mayor expresión de un ligando para HER3, por ejemplo, como consecuencia de una mutación que resulta en una mayor expresión de un ligando para HER3).

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende células que (i) expresan HER3 y (ii) que también expresan un ligando para HER3 (por ejemplo, que tienen una mayor expresión de un ligando para HER3, por ejemplo, como consecuencia de una mutación que resulta en una mayor expresión de un ligando para HER3).

En algunas modalidades, el ligando para HER3 comprende, o consiste en, la secuencia de aminoácidos de una región de unión a HER3 de un ligando para HER3, o una secuencia de aminoácidos derivada de una región de unión a HER3 de un ligando para HER3. Una secuencia de aminoácidos que se deriva de una región de unión a HER3 de un ligando para HER3 puede comprender al menos un 60% (por ejemplo, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100%) de identidad de secuencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de la que se deriva.

En algunas modalidades, el ligando para HER3 comprende un dominio similar a EGF capaz de unirse a HER3, o un fragmento de unión a HER3 de este. En algunas modalidades, un dominio/fragmento similar a EGF que se une a HER3 es, o se deriva de, un miembro de la familia EGF (por ejemplo, factor de crecimiento similar a EGF que se une a heparina (HB-EGF), factor de crecimiento transformante- α (TGF- α), anfiregulina (AR), epirregulina (EPR), epigen, betacelulina (BTC), NRG1, NRG2, NRG3 o NRG4).

Los ligandos ilustrativos para HER3 incluyen neurregulinas (NRG). Las neurregulinas incluyen NRG1 (incluidas sus isoformas alfa, alfa2b y alfa3), NRG2, NRG3 y NRG4. En algunas modalidades, un NRG se selecciona entre NRG1, NRG2, NRG3 y NRG4. En algunas modalidades, un NRG se selecciona entre NRG1 y NRG2.

El dominio similar a EGF del NRG1 humano, a través del cual se une a HER3, está formado por las posiciones 178-222 de UniProt:Q02297-1. El dominio similar a EGF del NRG2 humano está formado por las posiciones 341-382 de UniProt:O14511-1. El dominio similar a EGF del NRG3 humano está formado por las posiciones 286-329 de UniProt:B9EGV5-1. El dominio similar a EGF del NRG4 humano está formado por las posiciones 5-46 de UniProt:Q8WWG1-1. En algunas modalidades, un dominio/fragmento similar a EGF comprende, o consiste en, una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 60 % (por ejemplo, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad de secuencia de aminoácidos con el dominio similar a EGF de una NRG (NRG1, NRG2, NRG3 o NRG4).

En algunas modalidades, un ligando para HER3 no es una proteína de la familia EGFR (por ejemplo, HER3, HER2, EGFR, HER4, HGFR, IGF1R, cMet).

En algunas modalidades, la mutación que resulta en una mayor expresión de un ligando para HER3 es una fusión del gen NRG. En algunas modalidades, el ligando para HER3 es el producto de (es decir, un polipéptido codificado por) una fusión del gen NRG. En algunas modalidades, el cáncer comprende células que tienen una fusión de genes NRG. Como se utiliza en este documento, una 'fusión de genes NRG' se refiere a una variante genética que codifica un polipéptido que comprende (i) una secuencia de aminoácidos de una proteína NRG (por ejemplo, NRG1, NRG2, NRG3 o NRG4; p. ej., NRG1 o NRG2) y (ii) una secuencia de aminoácidos de una proteína distinta de la proteína NRG.

Se reconocerá que una fusión de genes NRG codifica preferiblemente un ligando HER3 como se describe en este documento. En algunas modalidades, una fusión de genes NRG codifica un polipéptido que comprende una región de unión a HER3 de una proteína NRG. En algunas modalidades, una fusión de genes NRG codifica un polipéptido que comprende el dominio similar a EGF de una proteína NRG, o una secuencia de aminoácidos que es capaz de unirse a HER3 y que tiene al menos un 60 % (por ejemplo, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad de secuencia de aminoácidos con el dominio similar a EGF de una proteína NRG.

En algunas modalidades, una fusión de genes NRG codifica un polipéptido de fusión que comprende un dominio transmembrana. En algunas modalidades, una fusión de genes NRG codifica un polipéptido de fusión que comprende el dominio transmembrana de una proteína distinta de la proteína NRG.

En algunas modalidades, una fusión de genes NRG es una fusión de genes NRG1. En algunas modalidades, una fusión de genes NRG1 codifica un polipéptido que comprende el dominio similar a EGF de NRG1, o una secuencia de aminoácidos que es capaz de unirse a HER3 y que tiene al menos un 60 % (por ejemplo, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad de secuencia de aminoácidos con el dominio similar a EGF de NRG1.

Las fusiones de genes NRG1 se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2021/048274 A1, WO 2018/182422 A1, WO 2019/051155 A1, Dhanasekaran et ál., Nat Commun. (2014) 5: 5893, Drilon et ál., Cancer Discov. (2018) 8(6):686-695, Nagasaka et ál., Journal of Thoracic Oncology (2019) 14(8):1354-1359 y Jonna et ál., Clin Cancer Res. (2019) 25(16):4966-4972, todos los cuales se incorporan en la presente como referencia en su totalidad. La diversidad de fusiones del gen NRG1 puede resultar de la ubicación de NRG1 en el cromosoma 8, que es particularmente susceptible a eventos de translocación genómica (Adélaïde et ál., Genes Chromosomes Cancer. (2003) 37(4):333-45).

En algunas modalidades, una fusión del gen NRG1 se selecciona entre CLU-NRG1, CD74-NRG1, DOC4-NRG1, SLC3A2-NRG1, RBPMS-NRG1, WRN-NRG1, SDC4-NRG1, RAB2IL1-NRG1, VAMP2-NRG1, KIF13B-NRG1, THAP7-NRG1, SMAD4-NRG1, MDK-NRG1, TNC-NRG1, DIP2B-NRG1, MRPL13-NRG1, PARP8-NRG1, ROCK1-NRG1, DPYSL2-NRG1, ATP1B1-NRG1, CDH6-NRG1, APP-NRG1, AKAP13-NRG1, THBS1-NRG1, FOXA1-NRG1, PDE7A-NRG1, RAB3IL1-NRG1, CDK1-NRG1, BMPRI1-NRG1, TNFRSF10B-NRG1 y MCPH1-NRG1. En algunas modalidades, una fusión del gen NRG1 es CLU-NRG1.

La fusión del gen CD74-NRG1 se describe, por ejemplo, en Fernandez-Cuesta et ál. Cancer Discov. (2014) 4:415–22 y Nakaoku et ál., Clin Cancer Res (2014) 20:3087-93. La fusión del gen DOC4-NRG1 se describe, por ejemplo, en Liu et ál., Oncogene. (1999) 18(50):7110-4 y Wang et ál., Oncogene. (1999) 18(41):5718-21. La fusión del gen SLC3A2-NRG1 se describe, por ejemplo, en Nakaoku et ál., Clin Cancer Res (2014) 20:3087-93, Shin et ál., Oncotarget (2016) 7:69450–65 y Shin et ál., Mol Cancer Ther. (2018) 17(9):2024-2033. Las fusiones de los genes RBPMS-NRG1, WRN-NRG1, RAB2IL1-NRG1 y SDC4-NRG1 se describen, por ejemplo, en Dhanasekaran et ál., Nat Commun. (2014) 5: 5893. La fusión del gen VAMP2-NRG1 se describe, por ejemplo, en Jung et ál., J Thorac Oncol. (2015) 10(7):1107-11 y Shim et ál., J Thorac Oncol. (2015) 10(8):1156-62. La fusión del gen KIF13B-NRG1 se describe, por ejemplo, en Xia et ál., Int J Surg Pathol. (2017) 25(3):238-240. Las fusiones de genes SMAD4-NRG1, AKAP13-NRG1, THBS1-NRG1, FOXA1-NRG1, PDE7A-NRG1, RAB3IL1-NRG1 y THAP7-NRG1 se describen, por ejemplo, en Drilon et ál., Cancer Discov. (2018) 8(6):686-695. Las fusiones de los genes MDK-NRG1, TNC-NRG1, DIP2B-NRG1, MRPL13-NRG1, PARP8-NRG1, ROCK1-NRG1 y DPYSL2-NRG1 se describen, por ejemplo, en Jonna et ál., Clin Cancer Res. (2019) 25(16):4966-4972. La fusión del gen ATP1B1-NRG1 se describe, por ejemplo, en Drilon et ál., Cancer Discov. (2018) 8(6):686-695 y Jones et ál., Annals of Oncology (2017) 28:3092–3097. La fusión del gen CLU-NRG1 se describe, por ejemplo, en Drilon et ál., Cancer Discov. (2018) 8(6):686-695 y Nagasaka et ál., Journal of Thoracic Oncology (2019) 14(8):1354-1359.

En algunas modalidades, una fusión de genes NRG es una fusión de genes NRG2.

En algunas modalidades, una fusión de genes NRG2 codifica un polipéptido que comprende el dominio similar a EGF de NRG2, o una secuencia de aminoácidos que es capaz de unirse a HER3 y que tiene al menos un 60 % (por ejemplo, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) de identidad de secuencia de aminoácidos con el dominio similar a EGF de NRG2.

Las fusiones del gen NRG2 incluyen SLC12A2-NRG2 descrito, por ejemplo, en WO 2021/048274 A1, WO 2015/093557 A1, y ZNF208-NRG2 descrito en Dupain et ál., Mol Ther. (2019) 27(1):200-218.

Un cáncer que comprende células que tienen una mutación que da como resultado una mayor expresión de un ligando para HER3 (por ejemplo, que comprende células que tienen una fusión del gen NRG, por ejemplo, una fusión del gen NRG1 o una fusión del gen NRG2) puede ser cualquier cáncer descrito en este documento. En algunas modalidades, dicho cáncer puede ser de tejidos/células derivadas del pulmón, mama, cabeza, cuello, riñón, ovario, páncreas, próstata, útero, vesícula biliar, tracto biliar, colon, recto, vejiga, tejido blando o nasofaringe.

En algunas modalidades, un cáncer que comprende células que tienen una mutación que da como resultado una mayor expresión de un ligando para HER3 (p. ej., que comprende células que tienen una fusión del gen NRG, p. ej., una fusión del gen NRG1 o una fusión del gen NRG2) se selecciona de: cáncer de pulmón, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma de pulmón mucinoso invasivo, carcinoma de células escamosas de pulmón, cáncer de mama, carcinoma de mama, carcinoma invasivo de mama, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer renal, carcinoma renal de células claras, cáncer de ovario, cistadenocarcinoma seroso de ovario, cáncer de páncreas, adenocarcinoma de páncreas, adenocarcinoma ductal de páncreas, cáncer de próstata, adenocarcinoma de próstata, cáncer de endometrio, carcinosarcoma uterino, cáncer de vesícula biliar, cáncer de las vías biliares, colangiocarcinoma, cáncer colorrectal, cáncer colorrectal metastásico, cáncer de vejiga, cáncer de vejiga urotelial, sarcoma, sarcoma de tejidos blandos, tumor neuroendocrino, tumor neuroendocrino de la nasofaringe y cáncer por deficiencia de recombinación homóloga (HRD).

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir es cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma de pulmón mucinoso invasivo o carcinoma de células escamosas de pulmón) que comprende células que tienen una fusión del gen NRG1.

Se reconocerá que, en las modalidades aquí descritas, los cánceres que comprenden células que tienen características específicas pueden ser o comprender tumores que comprenden células que tienen esas características.

Como es común en la técnica, un cáncer/tumor que comprende células que tienen características específicas puede denominarse en la presente simplemente un cáncer/tumor que tiene esas características. A modo de ilustración, un cáncer/tumor que comprende células que tienen una fusión del gen NRG1 puede denominarse simplemente «un cáncer/tumor que comprende una fusión del gen NRG1» o «un cáncer/tumor con fusión del gen NRG1».

En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende una mutación que confiere resistencia al tratamiento con un inhibidor de BRAF. En algunas modalidades, la mutación es una mutación en BRAF V600. En algunas modalidades, la mutación es BRAF V600E o V600K. El cáncer puede ser cáncer de tiroides o de colon, por ejemplo, cáncer colorrectal de tipo silvestre RAS. En algunas modalidades, el cáncer que se va a tratar/prevenir comprende una mutación que confiere resistencia

al tratamiento con un inhibidor de BRAF (por ejemplo, mutación en BRAF V600), y el tratamiento comprende la administración de vemurafenib o darafenib.

En algunas modalidades, el cáncer puede ser una recidiva de cáncer. Como se utiliza en este documento, un cáncer «recidivante» se refiere a un cáncer que respondió a un tratamiento (por ejemplo, una terapia de primera línea para el cáncer), pero que posteriormente ha resurgido/progresado, por ejemplo, después de un período de remisión. Por ejemplo, un cáncer recidivante puede ser un cáncer cuyo crecimiento/progresión fue inhibido por un tratamiento (por ejemplo, una terapia de primera línea para el cáncer) y que posteriormente ha crecido/progresado.

En algunas modalidades, el cáncer puede ser un cáncer refractario. Tal como se utiliza en este documento, un cáncer «refractario» se refiere a un cáncer que no ha respondido a un tratamiento (por ejemplo, una terapia de primera línea para el cáncer). Por ejemplo, un cáncer refractario puede ser un cáncer cuyo crecimiento/progresión no fue inhibido por un tratamiento (por ejemplo, una terapia de primera línea para el cáncer). En algunas modalidades, un cáncer refractario puede ser un cáncer para el cual un sujeto que recibe tratamiento para el cáncer no mostró una respuesta parcial o completa al tratamiento.

En algunas modalidades, un cáncer se selecciona de: un cáncer que comprende células que expresan/sobreexpresan un miembro de la familia EGFR (por ejemplo, HER3, EGFR, HER2 o HER4), un cáncer que comprende células que expresan/sobreexpresan HER3, un cáncer que comprende células que tienen una mutación que resulta en una mayor expresión de un ligando para HER3, un cáncer que comprende células que tienen una fusión del gen NRG, un tumor sólido, un cáncer hematológico, un cáncer de células escamosas, cáncer de mama, carcinoma de mama, carcinoma invasivo de mama, carcinoma ductal, cáncer de mama metastásico, cáncer de mama triple negativo, cáncer de mama HER2 positivo, cáncer de mama HER2 negativo, cáncer de mama con receptor hormonal positivo, cáncer de mama HER2 negativo/receptor hormonal positivo (por ejemplo, un cáncer que expresa el recetor de estrógeno (ER) y/o receptor de progesterona (PR)), cáncer gástrico, carcinoma gástrico, adenocarcinoma gástrico, adenocarcinoma gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer colorrectal metastásico, cáncer de colon, carcinoma colorrectal, adenocarcinoma colorrectal, adenocarcinoma de colon, cáncer de cabeza y cuello, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (CCECC), cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón, adenocarcinoma de pulmón mucinoso invasivo, carcinoma de células escamosas de pulmón (LUSC), cáncer de ovario, carcinoma de ovario, adenocarcinoma seroso de ovario, cistadenocarcinoma seroso de ovario, cáncer de trompas de Falopio, cáncer renal, carcinoma de células renales, carcinoma renal de células claras, adenocarcinoma de células renales, carcinoma renal de células papilares, cáncer de páncreas, adenocarcinoma pancreático, adenocarcinoma ductal pancreático, cáncer de cuello uterino, carcinoma de células escamosas de cuello uterino, cáncer de piel, melanoma, cáncer de cavidad oral, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, carcinoma de células escamosas de esófago (ESCC), adenocarcinoma de esófago, cáncer de hígado, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer de vías biliares, cáncer de útero, cáncer de endometrio, carcinoma endometrial del cuerpo uterino, carcinosarcoma uterino, cáncer de tiroides, carcinoma de tiroides, feocromocitoma, paraganglioma, cáncer de vejiga, carcinoma urotelial de vejiga, cáncer de próstata, adenocarcinoma de próstata, cáncer de próstata resistente a la castración, cáncer de próstata metastásico, cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, retinoblastoma, sarcoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer

peritoneal, timoma, tumor neuroendocrino, tumor neuroendocrino de la nasofaringe y cáncer por deficiencia de recombinación homóloga (HRD) (por ejemplo, cáncer de ovario HRD, cáncer de mama HRD, cáncer de próstata HRD o cáncer de páncreas HRD).

En algunas modalidades, un cáncer se selecciona de: cáncer colorrectal, carcinoma colorrectal, cáncer de próstata, carcinoma de próstata, cáncer de pulmón, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de mama, carcinoma de mama, carcinoma invasivo de mama, cáncer de ovario, adenocarcinoma de ovario, adenocarcinoma seroso de ovario, cáncer gástrico y melanoma.

El tratamiento de un cáncer de acuerdo con los métodos de la presente divulgación logra uno o más de los siguientes efectos de tratamiento: reduce la cantidad de células cancerosas en el sujeto, reduce el tamaño de un tumor/lesión cancerosa en el sujeto, inhibe (por ejemplo, previene o retarda) el crecimiento de células cancerosas en el sujeto, inhibe (por ejemplo, previene o retarda) el crecimiento de un tumor/lesión cancerosa en el sujeto, inhibe (por ejemplo, previene o retarda) el desarrollo/progresión de un cáncer (por ejemplo, a una etapa posterior o metástasis), reduce la gravedad de los síntomas de un cáncer en el sujeto, aumenta la supervivencia del sujeto (por ejemplo, supervivencia libre de progresión o supervivencia general), reduce un correlato de la cantidad o actividad de células cancerosas en el sujeto y/o reduce la carga de cáncer en el sujeto.

Los sujetos pueden ser evaluados de acuerdo con los Criterios revisados para la evaluación de la respuesta: la clasificación de Lugano (descrita, por ejemplo, en Cheson et ál., J Clin Oncol (2014) 32: 3059-3068, incorporado por referencia anteriormente) para determinar su respuesta al tratamiento. En algunas modalidades, el tratamiento de un sujeto de acuerdo con los métodos de la presente divulgación logra uno de los siguientes resultados: respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable.

La prevención puede referirse a la prevención del desarrollo de un cáncer y/o a la prevención del empeoramiento de un cáncer, por ejemplo, la prevención de la progresión de un cáncer, por ejemplo, a una etapa posterior (por ejemplo, metástasis). En algunas modalidades, la administración de una molécula/composición de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación puede estar asociada uno o más de: inhibición del desarrollo/progresión del cáncer, un retraso/prevención de la aparición del cáncer, una reducción/retraso/prevención del crecimiento del tumor, una reducción/retraso/prevención de la invasión tisular, una reducción/retraso/prevención de la metástasis, una reducción en la gravedad de uno o más síntomas del cáncer, una reducción en el número de células cancerosas, una reducción en la carga del cáncer, una reducción en el tamaño/volumen del tumor y/o un aumento en la supervivencia de sujetos que tienen el cáncer (p. ej. supervivencia libre de progresión o supervivencia general).

De acuerdo con varios aspectos de la presente divulgación, un método para tratar y/o prevenir un cáncer según la presente divulgación puede comprender inhibir el crecimiento de un tumor, reducir el tamaño/volumen de un tumor y/o aumentar la supervivencia de un sujeto que tiene el cáncer.

De acuerdo con varios aspectos de la presente divulgación, se proporcionan métodos que son para, o que comprenden (por ejemplo, en el contexto del tratamiento/prevención de un cáncer, por ejemplo, un cáncer descrito en la presente), uno o más de los siguientes:

unión a las células que expresan HER3;

inhibición de la proliferación de células que expresan HER3;

destrucción de células que expresan HER3;
 inhibición del crecimiento del tumor y/o reducción del tamaño/volumen del tumor, por ejemplo, de un cáncer que expresa HER3; y/o
 aumento de la supervivencia de sujetos que padecen un cáncer, por ejemplo, un cáncer que expresa HER3.

También se proporcionan moléculas y composiciones de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación para su uso en dichos métodos, y el uso de moléculas y composiciones de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación en la fabricación de composiciones (por ejemplo, medicamentos) para su uso en dichos métodos. Se reconocerá que los métodos típicamente comprenden administrar una molécula de unión al antígeno de acuerdo con la presente divulgación a un sujeto.

De manera similar, se pueden observar uno o más de los siguientes síntomas en un sujeto después de una intervención terapéutica o profiláctica de acuerdo con la presente divulgación (por ejemplo, en comparación con el nivel/cantidad/proporción, etc. antes de la intervención):

inhibición de la proliferación de células que expresan HER3;
 destrucción de células que expresan HER3;
 inhibición del crecimiento del tumor y/o reducción del tamaño/volumen del tumor, por ejemplo, de un cáncer que expresa HER3; y/o
 aumento de la supervivencia de un sujeto que padece un cáncer, por ejemplo, un cáncer que expresa HER3.

En algunas modalidades, la intervención terapéutica/profiláctica de acuerdo con la presente divulgación puede describirse como «asociada con» uno o más de los efectos descritos en el párrafo anterior. El experto en la materia puede evaluar fácilmente dichas propiedades utilizando técnicas que se practican habitualmente en la técnica.

La administración de las moléculas y composiciones de unión al antígeno de la presente divulgación se realiza preferiblemente en una cantidad «terapéuticamente eficaz» o «profilácticamente eficaz», siendo esta suficiente para mostrar un beneficio terapéutico o profiláctico para el sujeto. La cantidad real administrada, así como la velocidad y el tiempo de administración, dependerán de la naturaleza y la gravedad de la enfermedad/afección y del artículo particular administrado. La prescripción del tratamiento, por ejemplo, las decisiones sobre dosis, etc., es responsabilidad de los médicos generales y otros médicos, y normalmente tiene en cuenta la enfermedad o el trastorno que se va a tratar, la afección del sujeto individual, el lugar de administración, el método de administración y otros factores conocidos por los médicos. Se pueden encontrar ejemplos de las técnicas y protocolos mencionados anteriormente en 'The Science and Practice of Pharmacy' de Remington (Ed. A. Adejare), 23.^a edición (2020), Academic Press.

La administración de las moléculas y composiciones de unión al antígeno de la presente divulgación puede ser, por ejemplo, parenteral, sistémica, tópica, intracavitaria, intravascular, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal, intraocular, intraconjuntival, intratumoral, subcutánea, intradérmica, oral o transdérmica. La administración puede realizarse mediante inyección, infusión o ingestión.

En algunos aspectos y modalidades, los artículos de la presente divulgación pueden administrarse a un tejido/órgano de interés (por ejemplo, un tejido/órgano afectado por la enfermedad/afección afectada por la afección (por ejemplo, un tejido/órgano en el que se manifiestan los síntomas de la enfermedad/afección)). En algunos aspectos y modalidades, los artículos de la presente divulgación pueden administrarse a la

sangre (es decir, administración intravenosa/intraarterial) mediante inyección o infusión (por ejemplo, a través de una cánula), o pueden administrarse por vía subcutánea u oral. En algunos aspectos y modalidades, los artículos de la presente divulgación pueden administrarse a un tumor.

En algunas modalidades, la intervención terapéutica o profiláctica según la presente divulgación puede comprender además la administración de otro agente para el tratamiento/prevenición de la enfermedad/afección relevante. La administración de las moléculas y composiciones que se unen al antígeno descritas en este documento puede ser sola o en combinación con otros tratamientos, ya sea de manera simultánea o secuencial dependiendo de la condición a tratar. La administración simultánea se refiere a la administración con otro agente terapéutico en conjunto, por ejemplo, como una composición farmacéutica que contiene ambos agentes (preparación combinada), o inmediatamente uno después del otro (por ejemplo, dentro de 1, 4, 6, 8 o 12 horas) y opcionalmente a través de la misma vía de administración (por ejemplo, al mismo tejido, arteria, vena u otro vaso sanguíneo). La administración secuencial se refiere a la administración de un agente, seguida después de un intervalo de tiempo determinado, por la administración separada de otro agente. No se requiere que los dos agentes se administren por la misma vía, aunque este es el caso en algunas modalidades. El intervalo de tiempo puede ser cualquier intervalo de tiempo.

Se pueden proporcionar múltiples dosis de las moléculas y composiciones que se unen al antígeno. Las dosis múltiples pueden estar separadas por un intervalo de tiempo predeterminado, que puede seleccionarse para que sea uno de los siguientes: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 o 31 días, o 1, 2, 3, 4, 5 o 6 meses. Por ejemplo, las dosis pueden administrarse una vez cada 7, 14, 21 o 28 días (más o menos 3, 2 o 1 días).

Métodos de detección

La presente divulgación también proporciona los artículos de la presente divulgación para su uso en métodos para detectar, localizar o generar imágenes de HER3, o células que expresan HER3. La presente divulgación proporciona una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento para su uso en un método de diagnóstico o pronóstico de una enfermedad/afección, por ejemplo, una enfermedad/afección descrita en este documento.

Las moléculas de unión al antígeno descritas en este documento pueden usarse en métodos que implican la detección de la unión de la molécula de unión al antígeno a HER3. Estos métodos pueden implicar la detección del complejo unido de la molécula de unión al antígeno y HER3. Se reconocerá que el HER3 puede ser HER3 expresado por una célula, por ejemplo, en la superficie celular de una célula que expresa HER3. Como tal, se proporciona un método que comprende poner en contacto una muestra que contiene, o se sospecha que contiene, HER3, y detectar la formación de un complejo de la molécula de unión al antígeno y HER3. También se proporciona un método que comprende poner en contacto una muestra que contiene, o se sospecha que contiene, una célula que expresa HER3, y detectar la formación de un complejo de la molécula de unión al antígeno y una célula que expresa HER3.

Los formatos de métodos adecuados son bien conocidos en la técnica, incluidos inmunoensayos como ensayos sándwich, por ejemplo, ELISA. Los métodos pueden implicar el marcado de la molécula de unión al antígeno, o los objetivos, o ambos, con una fracción detectable, por ejemplo, una etiqueta fluorescente, una etiqueta fosforescente, una etiqueta luminiscente, una etiqueta detectable por icrop, una radioetiqueta, una etiqueta química, de ácido nucleico o enzimática como se describe en este documento. Las técnicas de detección son bien conocidas por los expertos en

la materia y pueden seleccionarse para corresponderse con el agente de etiquetado. Los métodos que comprenden la detección de HER3, o células que expresan HER3, incluyen métodos para diagnosticar/pronosticar una enfermedad/afección descrita en este documento.

Métodos de este tipo pueden realizarse in vitro en una muestra de paciente o después del procesamiento de una muestra de paciente. Una vez recogida la muestra, no es necesaria la presencia del paciente para realizar el método in vitro, por lo que el método puede ser uno que no se practique en el cuerpo humano o animal. En algunas modalidades, el método se realiza in vivo.

Dichos métodos pueden implicar la detección o cuantificación de HER3 y/o células que expresan HER3, por ejemplo, en una muestra de paciente. Cuando el método comprende cuantificar el factor relevante, el método puede comprender además comparar la cantidad determinada con un valor estándar o de referencia como parte de la evaluación de diagnóstico o pronóstico. Se pueden utilizar otras pruebas de diagnóstico/pronóstico junto con las descritas en este documento para mejorar la precisión del diagnóstico o pronóstico o para confirmar un resultado obtenido mediante el uso de las pruebas descritas en este documento.

La detección en una muestra se puede utilizar con el propósito de diagnosticar una enfermedad/afección (por ejemplo, un cáncer), predisposición a una enfermedad/afección, o para proporcionar un pronóstico de una enfermedad/afección, por ejemplo, una enfermedad/afección descrita en este documento. El diagnóstico o pronóstico puede estar relacionado con una enfermedad o afección existente (previamente diagnosticada).

Se puede tomar una muestra de cualquier tejido o fluido corporal. La muestra puede comprender o derivarse de: un tumor o una biopsia de este; una cantidad de sangre; una cantidad de suero derivado de la sangre del individuo, que puede comprender la porción líquida de la sangre obtenida tras la extracción del coágulo de fibrina y las células sanguíneas; una muestra de tejido o biopsia; líquido pleural; líquido cefalorraquídeo (LCR); o células aisladas de dicho individuo. En algunas modalidades, la muestra puede obtenerse o derivarse de uno o más tejidos afectados por la enfermedad/afección (por ejemplo, tejido o tejidos en los que se manifiestan los síntomas de la enfermedad o que participan en su patogénesis). En algunas modalidades, la muestra puede obtenerse o derivarse de un tumor.

Se puede seleccionar un sujeto para una evaluación de diagnóstico/pronóstico basándose en la presencia de síntomas indicativos de una enfermedad/afección descrita en este documento, o basándose en que se considere que el sujeto corre riesgo de desarrollar una enfermedad/afección descrita en este documento.

La presente divulgación también proporciona métodos para seleccionar/estratificar un sujeto para el tratamiento con un agente dirigido a HER3. En algunas modalidades, se selecciona un sujeto para el tratamiento/prevención de acuerdo con los métodos de la presente divulgación, o se identifica como un sujeto que se beneficiaría de dicho tratamiento/prevención, con base en la detección/cuantificación de HER3, o células que expresan HER3, por ejemplo, en una muestra obtenida del individuo.

Sujetos

El sujeto de acuerdo con los aspectos descritos en la presente puede ser cualquier animal o humano. El sujeto es preferiblemente mamífero, más preferiblemente humano. El sujeto puede ser un mamífero no humano, pero más preferiblemente es humano. El sujeto puede ser masculino o femenino. El sujeto puede ser un paciente. Es posible que a un sujeto se le haya diagnosticado una enfermedad o afección que requiera tratamiento (por ejemplo, un cáncer, por ejemplo, un cáncer descrito en este

documento), se sospeche que padece dicha enfermedad/afección, o que corra el riesgo de desarrollar/contrar dicha enfermedad/afección.

En algunas modalidades, el sujeto que se va a tratar de acuerdo con un método terapéutico o profiláctico de la presente divulgación es un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, un cáncer, por ejemplo, un cáncer descrito en este documento. En modalidades de acuerdo con la presente divulgación, un sujeto puede ser seleccionado para el tratamiento de acuerdo con los métodos basados en la caracterización de ciertos marcadores de dicha enfermedad/afección.

En algunas modalidades, un paciente puede ser seleccionado para el tratamiento descrito en este documento basándose en la detección de un cáncer que expresa/sobreexpresa HER3, por ejemplo, en una muestra obtenida del sujeto (por ejemplo, una biopsia, por ejemplo, de un tumor).

Kits

La presente divulgación también proporciona kits de piezas. Un kit según la presente divulgación puede comprender componentes para realizar un método descrito en este documento, en su totalidad o en parte.

El kit puede tener al menos un recipiente que tenga una cantidad predeterminada de una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento.

En algunos aspectos de la presente divulgación se proporciona un kit de piezas. En algunas modalidades, el kit puede comprender una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento, y que puede proporcionarse en una cantidad predeterminada.

El kit puede proporcionar una molécula o composición de unión al antígeno descrita en este documento junto con instrucciones para la administración a un paciente con el fin de tratar una enfermedad/afección específica (por ejemplo, una enfermedad/afección descrita en este documento, por ejemplo, un cáncer).

El kit puede proporcionar una fracción de unión al antígeno de acuerdo con la divulgación, y una fracción de carga útil del enlazador de acuerdo con la presente divulgación. El kit puede comprender además reactivos para conjugar la fracción de unión al antígeno y la fracción de carga útil del enlazador.

El kit puede comprender además reactivos, amortiguadores y/o estándares necesarios para la ejecución de un método de acuerdo con la presente divulgación. Los kits según la presente divulgación pueden incluir instrucciones de uso, por ejemplo, en forma de folleto o manual de instrucciones. Las instrucciones pueden incluir un protocolo para realizar cualesquiera uno o más de los métodos que se describen en la presente.

Identidad de secuencia

Como se utiliza en este documento, «identidad de secuencia» se refiere al porcentaje de nucleótidos/residuos de aminoácidos en una secuencia sujeto que son idénticos a los nucleótidos/residuos de aminoácidos en una secuencia de referencia, después de alinear las secuencias y, si es necesario, introducir espacios, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia entre las secuencias. El alineamiento de secuencias por pares y múltiples con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencia entre dos o más secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos se puede lograr de varias maneras conocidas por una persona experta en la materia, por ejemplo, utilizando software informático disponible públicamente como ClustalOmega (Söding, J. 2005, *Bioinformatics* 21, 951-960), T-coffee (Notredame et ál. 2000, *J. Mol. Biol.* (2000) 302, 205-217), Kalign (Lassmann y Sonnhammer 2005, *BMC Bioinformatics*, 6(298)) y MAFFT (Kato y Standley 2013, *Molecular Biology and Evolution*, 30(4) 772-780). Al utilizar dicho software, es preferible utilizar los parámetros predeterminados, por ejemplo, la penalización por espacio y la

penalización por extensión.
Secuencias

SEQ ID NO:	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
1	Isoforma 1 del HER3 humano (UniProt: P21860-1, v1)	MRANDALQVLGLLFSLARGSEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGDAENQYQTLTKLYERCEVVMGNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVMLNYNTNSSHARQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIVVKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGESEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNPQCCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDSGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPNPHTKYQYGGVCVASCPhNFVVDQTSCVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLITGLNGDPWHKIPALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVSFSLNLTIGGRSLYNRGFSLLIMKLNLTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTKVLRGPTTEERLDIKHNRPRRDCVAEGKVCPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGVCVTHCNFLNGEPREFAEAEAFSCHPECQPMEGTATCN GSGSDTCAQCAHFRDGPCHVSSCPHGVLAGKGPYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLIGKTHLTALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLGERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGVWIPEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQVLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALESIHFYKQTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLR LAEVPDLLEKGERLAQPQIC
2	Isoforma 2 del HER3 humano (UniProt: P21860-2)	MRANDALQVLGLLFSLARGSEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGDAENQYQTLTKLYERCEVVMGNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVMLNYNTNSSHARQLRLTQLTGQFPMVPSGLTPQPAQDWYLLDDDPRLTLSSASKVPVTLAAV
3	Isoforma 3 del HER3 humano (UniProt: P21860-3)	MRANDALQVLGLLFSLARGSEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGDAENQYQTLTKLYERCEVVMGNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVMLNYNTNSSHARQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIVVKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGESEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNPQCCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDSGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPNPHTKYQYGGVCVASCPhNFVVDQTSCVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKAF
4	Isoforma 4 del HER3 humano (UniProt: P21860-4)	MGNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDYGKFAIFVMLNYNTNSSHARQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIVVKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGESEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNPQCCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDSGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPNPHTKYQYGGVCVASCPhNFVVDQTSCVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLITGLNGDPWHKIPALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVSFSLNLTIGGRSLYNRGFSLLIMKLNLTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTKVLRGPTTEERLDIKHNRPRRDCVAEGKVCPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGVCVTHCNFLNGEPREFAEAEAFSCHPECQPMEGTATCN GSGSDTCAQCAHFRDGPCHVSSCPHGVLAGKGPYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLIGKTHLTALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLGERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGVWIPEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQVLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALESIHFYKQTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLR LAEVPDLLEKGERLAQPQIC

		TIDVYVMVMVKCWMIDENIRPTFKELANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIAPG PEPHGLTNKKLEEVELEPELDLDLDLEAEEDNLATTTLSALSPLVGTLNRP GSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGESCQESAVSGSSERCPRPVSLHPMPRGCL ASESSEGHVTGSEAELQEKVSMCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLTTP VTPLSPPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDE DEEYEMNRRRRRHSPPHPPRPSSLEELGYEYMDVGSDLSASLGSTQSCPLH PVPIMPTAGTTPDEDYEYMNQRDGGGPGGDYAAMGACPASEQGYEEMR AFQGGPGHQAPHVHYARLKTLSLEATDSAFDNPDYWHSRLFPKANAQRT
5	Isoforma 5 del HER3 humano (UniProt: P21860-5)	MALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLERGESIEPLDPSEK ANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGWVWIPAGESIKIPVCIKVIEDKSG RQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQ HRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVAD FGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALESIFHGKYTHQSDVWSYGVTVWEL MTFGAEPYAGLRRLAEVPDLLEKGERLAQPQICTIDVYVMVMVKCWMIDENIRP TFKELANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIAPGPEPHGLTNKKLEEVELEPEL DLDLDLEAEEDNLATTTLSALSPLVGTLNRPGRGSQSLLSPSSGYMPMNQGN LGESCQESAVSGSSERCPRPVSLHPMPRGCLASESSEGHVTGSEAELQEK KVSMCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLTTPVTPLSPPGLEEEDVNGYV MPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEEYEMNRRRRRHSPPH PRPSSLEELGYEYMDVGSDLSASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDEDYEY MNQRDGGGPGGDYAAMGACPASEQGYEEMRAAFQGGPGHQAPHVHYARL KTLSLEATDSAFDNPDYWHSRLFPKANAQRT
6	Isoforma 1 de HER3 humano maduro (UniProt: P21860-1, posiciones v1 20 a 1342)	SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLKLYERCEVVMGNLEIVLTGH NADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVMLN YNTNSSHALLRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIV VKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGSEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQ CCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPN PHTKYQYGGVCVASCPhNFVDQTSCVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCG GLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLITGLNGDPWHKIP ALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVSFNLTTIGGRSLYNRGFSL LIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSNLWTKVLRGPTEERLDI KHNRPRRDCVAEGKVCPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGVCVTHC NFLNGEPREFAEAEFCFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGP HCVSSCPHGVLGAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQT LVLIGKTHLTMALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNKRAMRRYLERGES IEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGWVWIPAGESIKIPVCI KVIEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPLGS LLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSP SQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALESIFHGKYTHQSDVWSY GVTVWELMTFGAEPYAGLRRLAEVPDLLEKGERLAQPQICTIDVYVMVMVKCW MIDENIRPTFKELANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIAPGPEPHGLTNKKLE EVELEPELDLDLDLEAEEDNLATTTLSALSPLVGTLNRPGRGSQSLLSPSSGY MPMNQGNLGESCQESAVSGSSERCPRPVSLHPMPRGCLASESSEGHVTGS EAELEQEKVSMCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLTTPVTPLSPPGLEEED VNGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEEYEMNRRRRRH SPPHPPRPSSLEELGYEYMDVGSDLSASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDE DYEYMNQRDGGGPGGDYAAMGACPASEQGYEEMRAAFQGGPGHQAPHVH YARLKTLSLEATDSAFDNPDYWHSRLFPKANAQRT
7	Isoforma 2 del HER3 humano maduro (UniProt: P21860-2 posiciones 20 a 183)	SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLKLYERCEVVMGNLEIVLTGH NADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVMLN YNTNSSHALLRQLRLTQLTGQFPMVPSGLTPQPAQDWYLLDDDPRLLTLSAS SKVPVTLAAV
8	Isoforma 3 del HER3 humano maduro (UniProt: P21860-3 posiciones 20 a 331)	SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLKLYERCEVVMGNLEIVLTGH NADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVMLN YNTNSSHALLRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIV VKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGSEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQ CCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDGACVPRCPQPLVYNKLTQLEPN PHTKYQYGGVCVASCPhNFVDQTSCVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCG

		GLCPKAF
9	Región extracelular de la isoforma 1 del HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 20 a 643)	SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLTKLYERCEVVMGNLEIVLTGH NADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVMLN YNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIV VKDNGRSCPPCHEVCKGRCWGPGESEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQ CCHDECAGGCSGPQDTCFACRHFNDGACVPRCPQPLVYNKLTFLQLEPN PHTKYQYGGVVCVASCPhNFVVDQTSVVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCG GLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLITGLNGDPWHKIP ALDPEKLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVFSNLTTIGGRSLYNRGFSL LIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSNLNWTKVLRGPTEERLDI KHNRPRRDCVAEGKVCDPLCSSGGCWGPGPGQCLSCRNYSRGGVCVTHC NFLNGEPREFAEAEAFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGP HCVSSCPHGVLGAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQT LVLIGKTHLT
10	Dominio transmembrana de la isoforma 1 del HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 644 a 664)	MALTVIAGLVVIFMMLGGTFL
11	Dominio citoplasmático de la isoforma 1 del gen HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 665 a 1342)	YWRGRRIQNKRAMRRYLGERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLG SGVFGTVHKGVWIPGEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHA HIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKG MYYLEEHGMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAK TPIKWMALESIHFGKYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLRLAEVPDLL EKGERLAQPQICTIDVYMMVMVKCWMIDENIRPTFKELANEFTRMARDPPRYL VIKRESGPGIAPGPEPHGLTNKKLEEVELEPELDDLDDLEAEEDNLATTTLSG ALSLPVGTLNRPRGSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGESCQESAVSGSSERCP RPVSLHPMPRGCLASESSEGHVGTGSEAELEKQVSMCRSRSRSPRPRGD SAYHSQRHSLTTPVTPLSPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSV GLSSVLGTEEEDEDEEYEMNRRRRHSPPHPPRPSLEELGYEYMDVGS DL SASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDEDYEMNRQRDGGGPGGDYAAMGA CPASEQGYEEMRAFQGGPHQAPHVHYARLKTLSLEATDSAFDNPDYWHS RLFPKANAQRT
12	Segmento yuxtamembrana de la isoforma 1 de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 665 a 708)	YWRGRRIQNKRAMRRYLGERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETE
13	Dominio de la proteína quinasa de la isoforma 1 de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 709 a 966)	LRKLKVLGSGVFGTVHKGVWIPGEGESIKIPVCIKVIEDKSGRQSFQAVTDHML AIGSLDH AHIVRLLGLCPGSSLQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAK GMYYLEEH GMVHRNLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMA LESIHFGKY THQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLRLAEVPDLLEKGERLAQPQICTIDV YMMVMVKCW MIDENIRPTFKELANEFT
14	Segmento C terminal de la isoforma 1 de HER3 humano (UniProt:	RMARDPPRYLVIKRESGPGIAPGPEPHGLTNKKLEEVELEPELDDLDDLEAEE DNLATTTLSGALSPLVGTLNRPRGSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGESCQESA VSGSSERCPRPVSLHPMPRGCLASESSEGHVGTGSEAELEKQVSMCRSRSR SRSPRPRGDSAYHSQRHSLTTPVTPLSPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTPS SREGTLSSVGLSSVLGTEEEDEDEEYEMNRRRRHSPPHPPRPSLEELGY

	P21860-1, posiciones v1 967 a 1342)	EYMDVGSDLSASLGSTQSCPLHPVPIMPTAGTTPDEDEYEMNRQRDGGGP GGDYAAMGACPASEQGYEEMRAFGQPGHQAPHVHYARLKTLRSLEATDSA FDNPDYWH SRLFPKANAQRT
15	Subdominio I de la región extracelular de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 20 a 183)	SEVGNSQAVCPGTLNGLSVTGAENQYQTLTKLYERCEVVMGNLEIVLTGH NADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVYDGKFAIFVMLN YNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWRDIVRDRDAEIV VKDNGRSC
16	Subdominio II de la región extracelular de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 184 a 329)	PPCHEVCKGRCWGPGEEDCQTLTKTICAPQCNGHCFGNPNQCCCHDECA GGCSGPQDQDTCFACRHFNDSGACVPRCPQLVYNKLTQLEPNPHTKYQY GGVCVASC PHNFVVDQTSCVRACPPDKMEVDKNGLKMCEPCGGLCPK
17	Subdominio III de la región extracelular de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 330 a 495)	ACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLITGLNGDPWHKIPALDPE KLNVFRTVREITGYLNIQSWPPHMHNFVFSNLTTIGGRSLYNRGFSLLIMKN LNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWTKVLRGPTEERLDIKHNR PRRDCVA
18	Subdominio IV de la región extracelular de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 496 a 643)	EGKVC DPLCSSGGCWGP GPGQCLSCRNYSRGGVCVTHCNFLNGEPREFA HEAECFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDTCAQCAHFRDGP HCVSSCPHGV L GAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCKGPELQDCLGQTLVLIGKTHLT
19	Bucle de dimerización del subdominio II de la región extracelular de HER3 humano (UniProt: P21860-1, posiciones v1 261 a 278)	QPLVYNKLTQLEPNPH
20	HER3 del macaco Rhesus (UniProt: F7HEH3-1, v2)	MGNLEIVLTGHNADLSFLQWIREVTGYVLVAMNEFSTLPLPNLRVVRGTQVY DGKFAIFVMLNYNTNSSHALRQLRLTQLTEILSGGVYIEKNDKLCHMDTIDWK DIVRDQDAEIVVKDNGRSCPLCHEVCKGRCWGP GPEDCQTLTKTICAPQCN GHCFGNPNQCCCHDECAGGCSGPQDQDTCFACRHFNDSGACVPRCPQLV YNKLTQLEPNPHTKYQYGGVCVASC PHNFVVDQTSCVRACPPDKMEVDK NGLKMCEPCGGLCPKACEGTGSGSRFQTVDSNIDGFVNCTKILGNLDFLIT GLNGDPWHKIPALDPEKLN VFRTVREITGYLNIQSWPPHMYNFSVFSNLTTIG GRSLYNRGFSLLIMKNLNVTSLGFRSLKEISAGRIYISANRQLCYHHSLNWT KVLRGPTEERLDIKHNRPRRDCVAEGKVC DPLCSSGGCWGP GPGQCLSCRN YSRGGVCVTHCNFLNGEPREFAHEAECFSCHPECQPMEGTATCNGSGSDT CAQCAHFRDGP HCVSSCPHGV L GAKGPIYKYPDVQNECRPCHENCTQGCK GPELQDCLGQTLVLIGKTHLT MALTVIAGLVVIFMMLGGTFLYWRGRRIQNK R AMRRYLERGESIEPLDPSEKANKVLARIFKETELRKLKVLGSGVFGTVHKGV WIPEGESIKIPVCIKIEDKSGRQSFQAVTDHMLAIGSLDHAHIVRLLGLCPGSS LQLVTQYLPLGSLLDHVRQHRGALGPQLLLNWGVQIAKGMYYLEEHGMVHR

		NLAARNVLLKSPSQVQVADFGVADLLPPDDKQLLYSEAKTPIKWMALESIHFGKYTHQSDVWSYGVTVWELMTFGAEPYAGLRRLAEVPDLLEKGERLAQPQIC TIDVYVMVMVKCWMIDENIRPTFKELANEFTRMARDPPRYLVIKRESGPGIAPG PEPHGLTNKKLEEVELEPELDLDLDLEAEEDNLATTTLSALSPLVGTLNRP GSQSLLSPSSGYMPMNQGNLGEAFQESAVSGSSEWCPRPVSLHPMPRGCL ASESSEGHVTGSEAELEQKVSTCRSRSRSPRPRGDSAYHSQRHSLTPV TPLSPPGLEEEDVNGYVMPDTHLKGTPSSREGTLSSVGLSSVLGTEEEDED EEYEYMNRRRRHSPRPPRPSLEELGYEYMDVGSDLSASLGSTQSCPLHP VPVMPTAGTTPDEDEYEMNRQRGGSGPGGDYAAMGACPASEQGYEEMRA FQGPQHQAAPHVHYAHLKTLRSLEATDSAFDNPDPYWSRLFPKANAQRT
21	región variable de la cadena pesada 10D1	DVQLQESGPDVVKPSQSLSLTCTVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNKLEWMGS IHYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYFCARMTTAPR YFDDYWGQGTTLTVSS
22	región variable de la cadena pesada 10D1_c75	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPTLKSRLISRTDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
23	región variable de la cadena pesada 10D1_c76	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
24	región variable de la cadena pesada 10D1_c77	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
25	región variable de la cadena pesada 10D1_c78v1	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
26	región variable de la cadena pesada 10D1_c78v2	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGKGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
27	región variable de la cadena pesada 10D1_11B	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVYGYSITSGYSWHWIRQPPGKGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPR YFDDYWGQGTTLTVSS
28	región variable de la cadena pesada 10D1_c85v1	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI RYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLGSVTAADTAVYFCARMTTAPR YFDDYWGQGTTLTVSS
29	región variable de la cadena pesada 10D1_c85v2	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGKGLEWIGSI RYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLGSVTAADTAVYFCARMTTAPR YFDDYWGQGTTLTVSS
30	región variable de la cadena pesada 10D1_c85o1	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGKGLEWIGSI RYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLGSVTAADTAVYFCARETTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
31	región variable de la cadena pesada 10D1_c85o2	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGKGLEWIGSI RYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLKLGSVTAADTAVYFCARGTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
32	región variable de la cadena pesada 10D1_c87	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRLISRTDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGQGTTLTVSS
33	región variable de la cadena pesada	QVQLQESGPGVLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKSRLISADTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YFDDYWGQGTTLTVSS

	10D1_c89	
34	región variable de la cadena pesada 10D1_c90	QVQLQESGPGLVKPSQTLFLTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKLSTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YPFDYWGGQTTTVTVSS
35	región variable de la cadena pesada 10D1_c91	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTLTCTVSGYYITSGYSWHWIRQHHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKLSTISADTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YPFDYWGGQTAVTVSS
36	región variable de la cadena pesada 10D1_c92	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPTLKSRTISRDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGGQGLTVTVSS
37	región variable de la cadena pesada 10D1_c93	DVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWIRQFPGNGLEWIGSI HYSGGTNYNPSLKSRTISRDTSKNQFSLRLSSVTAADTAVYFCARMTTAPRY PFDYWGGQGLTVTVSS
38	10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, CDR1 de la cadena pesada 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c87, 10D1_c89, 10D1_c90, 10D1_c92, 10D1_c93	GYSITSGYS
39	CDR1 de la cadena pesada 10D1_c91	GYITSGYS
40	CDR1 de la cadena pesada de consenso derivada de 10D1	GYX ₁ ITSGYS donde X ₁ = S o Y
41	10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1, CDR2 de la cadena pesada 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c87, 10D1_c92, 10D1_c93	IHYSGGT
42	10D1_c85v1, 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c89,	IRYSGGT

	10D1_c90, CDR2 de la cadena pesada 10D1_c91	
43	CDR2 de la cadena pesada de consenso derivada de 10D1	IX ₂ YSGGT donde X ₂ = H o R
44	10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, CDR3 de cadena pesada 10D1_c85v2, 10D1_c87, 10D1_c92, 10D1_c93	ARMTTAPRYPDFY
45	10D1_c89, 10D1_c90, CDR3 de la cadena pesada 10D1_c91	ARMTTAPWYPFDY
46	CDR3 de la cadena pesada 10D1_c85o1	ARETTAPRYPDFY
47	CDR3 de la cadena pesada 10D1_c85o2	ARGTTAPRYPDFY
48	CDR3 de la cadena pesada de consenso derivada de 10D1	ARX ₃ TTAPX ₄ YPDFY donde X ₃ = M, E o G; X ₄ = R o W
49	región variable de la cadena ligera 10D1	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQIVGSNVAWYQQKPGQSPKPLIYSA SYRYSGVPDRFTASGSGTDFTLTITNVQSEDLAIEYFCQQYSSHPLTFGAGTK LELK
50	región variable de la cadena ligera 10D1_c75	DIVMTQSPSSLSASVGDVLTITCKASQIVGSNVAWYQMKPGKSPKPLIYSASY LYFGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVAIEYFCQQYSSHPLTFGPGTKVEI K
51	región variable de la cadena ligera 10D1_c76	DIVMTQSPSSLSASGGDRVITITCKASQIVGYNVAWYQQKPGKSPKPLIYSAS YLYSDVPSRFSASGSGTDFTLTISLQPEDVAIEYFCQQYSSHPLTFGPGTKV EIK
52	región variable de la cadena ligera 10D1_c77	VIVMTQSPSSLSASVGDVITITCKASQIVGPNVAWYQQKPGKSPKPLIYSASY GYSDVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVAIEYFCQQYSTHPLTFGPGTKVE IK
53	región variable de la cadena ligera 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B	DIVMTQSPSSLSASVGDVITITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKSPKPLIYSASY GYSDVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSHPLTFGPGTKVE IK
54	región variable de la cadena ligera	DIVMTQSPSSLSASVGDVITITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKSPKPLIYSAR YQYSGVPFRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSHPLTFGPGTKV EIK

	10D1_c85v1, 10D1_c85v2	
55	región variable de la cadena ligera 10D1_c85o1	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKSPKPLIYSAR YQYSGVPFRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSHPLTFGPGTKV EIK
56	región variable de la cadena ligera 10D1_c85o2	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKSPKPLIYSAR YQYSGVPFRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQQYSSHPLTFGPGTKV EIK
57	región variable de la cadena ligera 10D1_c87	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQMPGKSPEPLIYSAS YLYSDVPSRFSGSGSGTDFTMTISLQPEDVATYYCQQYSSHPLTFGPGTKV EIK
58	región variable de la cadena ligera 10D1_c89	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKAPEPLIYSAS YLYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSHPLTFGQGTKL EIK
59	región variable de la cadena ligera 10D1_c90	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKAPEPLIYSAS YLYSSVPSRFSGSGSGTEFTMTISLQPEDFATYYCQQYTTTHPLTFGPGTKV EIK
60	región variable de la cadena ligera 10D1_c91	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKAPMPLIYSAS YGYSVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYSSHPLTFGQGTKL EIK
61	región variable de la cadena ligera 10D1_c92	DIVMTQSPSSLSASVGDVLTITCKASQIVGSNVAWYQMKLGKSPKPLIYSAS LYFGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVAEYFCQQYFSHPLTFGPGTKVEI K
62	región variable de la cadena ligera 10D1_c93	DIVMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKSPKPLIYSAS YLYSDVPSRFSGSGSGTDFTMTISLQPEDVATYYCQQYSSHPLTFGPGTKVE IK
63	10D1, 10D1_c75, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c87, 10D1_c89, 10D1_c90, CDR1 de cadena ligera 10D1_c91, 10D1_c92, 10D1_c93	QIVGSN
64	CDR1 de la cadena ligera 10D1_c76	QIVGYN
65	CDR1 de la cadena ligera 10D1_c77	QIVGPN
66	CDR1 de cadena ligera de consenso derivada de 10D1	QIVGX ₅ N donde X ₅ = S, Y o P
67	10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c77, 10D1_c78v1,	SAS

	10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c87, 10D1_c89, 10D1_c90, 10D1_c91, 10D1_c92, 10D1_c93 CDR2 de la cadena ligera	
68	10D1_c85v1, CDR2 de la cadena ligera 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2	SAR
69	CDR2 de la cadena ligera de consenso derivada de 10D1	SAX ₆ donde X ₆ = S o R
70	10D1, 10D1_c75, 10D1_c76, 10D1_c78v1, 10D1_c78v2, 10D1_11B, 10D1_c85v1, 10D1_c85v2, 10D1_c85o1, 10D1_c85o2, 10D1_c87, 10D1_c89, CDR3 de la cadena ligera 10D1_c91, 10D1_c93	QQYSSHPLT
71	CDR3 de la cadena ligera 10D1_c77	QQYSTHPLT
72	CDR3 de la cadena ligera 10D1_c90	QQYTTHPLT
73	CDR3 de la cadena ligera 10D1_c92	QQYFSHPLT
74	CDR3 de la cadena ligera de consenso derivada de 10D1	QQYX ₇ X ₈ HPLT donde X ₇ = S, T o F; X ₈ = S o T
75	10D1_c89 hlgG1 HC	QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKS LVTISADTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YPFDYWGGQTTTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEX ₉ X ₁₀ GGPSVFLFPPKPKDTLX ₁₁ IX ₁₂ RX ₁₃ PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

		donde $X_9 = L \text{ o } A$; $X_{10} = L \text{ o } A$; $X_{11} = M \text{ o } Y$; $X_{12} = S \text{ o } T$; $X_{13} = T \text{ o } E$.
76	10D1_c89 K LC	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASQIVGSNVAWYQQKPGKAPEPLIYSAS YLYSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQYSSHPLTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
77	Sitio de unión de HER3 para clones derivados de 10D1	CFGPNPNQCCHDECAGGC
78	Motivo del sitio de unión 1	PNPNQ
79	Motivo del sitio de unión 2	DECAG
80	10D1_c89 hlgG1 HC (mut1)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKS LVTISADTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YFPDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
81	10D1_c89 hlgG1 HC (mut2)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKS LVTISADTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YFPDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
82	10D1_c89 hlgG1 HC (mut1,2)	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHPGKGLEWIGSI RYSGGTDYNPSLKS LVTISADTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPW YFPDYWGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
83	Región CH2- CH3 de la IgG1 humana (G1m1)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
84	Región CH2- CH3 de la IgG1 humana (G1m3)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
85	Región CH2- CH3 de la IgG2 humana	APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIE KTISKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNG QPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
86	Región CH2- CH3 de la IgG3 humana	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQ PENNYNTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRT

		QKSLSLSPGK
87	Región CH2-CH3 de la IgG4 humana	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
88	Región CH2-CH3 de la IgG1 humana (G1m3) mut1	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89	Región CH2-CH3 de la IgG1 humana (G1m3) mut2	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
90	Región CH2-CH3 de la IgG1 humana (G1m3) mut1,2	APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	10D1_c89 hlgG1 HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGYSITSGYSWHWIRQHPGKGLEWIGSIRYSGGTDYNPSLKLSTISADTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARMTTAPWYFPDYWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
92	Patritumab HC	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGENHSGSTNYPNPSLKSRTISVETSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
93	Patritumab LC	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVELYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
94	hlgG1 HC (mut1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
95	hlgG1 HC (mut2)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
96	hlgG1 HC (mut1,2)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

		DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
97	ISO343c.S8D4 LC	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQYYSTPRT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
98	ISO343c.S8D4 HC	QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE NHSGSTNYPNLSKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
99	ISO209b.S8D4 LC	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPK LLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQYYSTPRT FGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFPYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC
100	ISO209b.S8D4 HC	QVQLQQWAGALLKPKSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGE NHSGSTNYPNLSKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWY FDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

La presente divulgación incluye la combinación de los aspectos y características preferidas descritas excepto cuando dicha combinación sea claramente inadmisible o se evite expresamente.

Los títulos de las secciones que se usan en la presente tienen únicamente fines de organización y no se ha de interpretar que limiten la materia descrita.

A continuación, se ilustrarán aspectos y modalidades de la presente divulgación, a modo de ejemplo, con referencia a las figuras adjuntas. Los expertos en la materia comprenderán otros aspectos y modalidades. Todos los documentos mencionados en este texto se incorporan al presente documento por referencia.

A lo largo de esta memoria descriptiva, incluidas las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, la palabra «comprender» y variaciones tales como «comprende» o «que comprende» implican la inclusión de un número entero o etapa, o grupo de enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro entero o etapa, o grupo de enteros o etapas.

Cabe destacar que, tal como se usan en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares «un», «una» y «el/la» incluyen las formas plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Los rangos pueden expresarse aquí desde «aproximadamente» un valor particular y/o hasta «aproximadamente» otro valor particular. Cuando se expresa tal rango, otra modalidad incluye desde un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente 'aproximadamente', se entenderá que el valor particular forma

otra modalidad.

Tal como se utiliza en este documento, un «péptido» se refiere a una cadena de dos o más monómeros de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Un péptido normalmente tiene una longitud de entre 2 y 50 aminoácidos. Un 'polipéptido' es una cadena polimérica de dos o más péptidos. Los polipéptidos suelen tener una longitud superior a unos 50 aminoácidos.

Cuando en la presente se divulga o se hace referencia a una secuencia de ácido nucleico, también se contempla expresamente su complemento inverso.

Los métodos descritos en este documento pueden realizarse preferiblemente *in vitro*. El término «*in vitro*» pretende abarcar procedimientos realizados con células en cultivo, mientras que el término «*in vivo*» pretende abarcar procedimientos con/sobre organismos multicelulares intactos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Caracterización de 10D1F en WO 2019/185878 A1 y WO 2021/048274 A1

El clon de anticuerpo de unión a HER3 designado 10D1F se describe en WO 2019/185878 A1 (incorporado por referencia en su totalidad).

10D1F comprende la región variable de la cadena pesada que se muestra en la SEQ ID NO:36 del documento WO 2019/185878 A1 (=SEQ ID NO:33 de la presente divulgación) y la región variable de la cadena ligera que se muestra en la SEQ ID NO:83 del documento WO 2019/185878 A1 (= SEQ ID NO:58 de la presente divulgación). 10D1F también se denomina «10D1_c89» en el documento WO 2019/185878 A1.

El ejemplo 2.2 del documento WO 2019/185878 A1 describe una molécula (molécula [16]) que comprende las regiones VH y VL de 10D1F en formato IgG1/Vk humano (10D1F hlgG1), formada por SEQ ID NO:206 del documento WO 2019/185878 A1 y SEQ ID NO:207 del documento WO 2019/185878 A1.

Los ejemplos 8.1 a 8.3 y las figuras 42 a 46 del documento WO 2019/185878 A1 muestran que 10D1F hlgG1 se une a HER3 humano con alta afinidad y especificidad (sin mostrar reactividad cruzada con otros miembros de la familia EGFR humana), mientras que conserva una unión de alta afinidad a HER3 de cino, ratón y rata.

El ejemplo 8.6 y las figuras 49A y 49B del documento WO 2019/185878 A1 demuestran que 10D1F hlgG1 se une a HER3 de manera independiente del ligando (NRG) y a través de un epítipo topológicamente distante de HER3 al epítipo unido por los anticuerpos anti-HER3 M-05-74 y M-08-11. El ejemplo 8.10 y la figura 78 del documento WO 2021/048274 A1 demuestran que 10D1F hlgG1 se une a HER3 humano con afinidad subpicomolar en presencia o ausencia de NRG1 humano.

El documento WO 2021/048274 A1 en el Ejemplo 3.5 también divulga que el clon de anticuerpo 10D1 y los clones derivados de 10D1 (incluido 10D1F) se unen a HER3 humano en la región correspondiente a las posiciones 218 a 235 de SEQ ID NO: 1 (es decir, SEQ ID NO: 77 de la presente divulgación), y que, dentro de esta región, se identificaron dos motivos de sitio de unión de consenso (mostrados en SEQ ID NOs: 78 y 79 de la presente divulgación).

El ejemplo 4.1 y la figura 65, y el ejemplo 8.7 y la figura 52 del documento WO 2019/185878 A1 demuestran que 10D1F hlgG1 es altamente potente para inhibir la interacción entre HER3 y HER2, y lo hace de manera dependiente de la dosis. El ejemplo 8.7 y la figura 53 del documento WO 2019/185878 A1 muestran que 10D1F hlgG1 inhibe la interacción entre HER3 y EGFR de manera dependiente de la dosis.

El ejemplo 8.8 y la figura 54 del documento WO 2019/185878 A1 muestran que 10D1F hlgG1 induce la actividad ADCC contra células que sobreexpresan HER3 de una

manera dependiente de la dosis.

El ejemplo 8.9 y las figuras 55, 63 y 64 del documento WO 2019/185878 A1 demuestran que 10D1F hlgG1 inhibe la señalización mediada por HER3 en células de líneas celulares de cáncer que expresan HER3 in vitro.

El ejemplo 11 y la figura 71 del documento WO 2019/185878 A1 muestran que 10D1F hlgG1 también inhibe la señalización mediada por HER3 en tumores de xenoinjerto derivados de líneas celulares de cáncer humano que expresan HER3 in vivo. El ejemplo 14 y la figura 79 del documento WO 2021/048274 A1 demuestran que 10D1F es extremadamente potente para inhibir el crecimiento de tumores de xenoinjerto derivados de una línea de células cancerosas humanas que alberga una fusión del gen NRG.

Los ejemplos 9.3, 9.4 y las figuras 59, 60, 61, 62, 74 y 77 del documento WO 2019/185878 A1 demuestran que 10D1F inhibe potentemente el crecimiento de células cancerosas in vitro y también inhibe potentemente el crecimiento de tumores de xenoinjerto derivados de líneas de células cancerosas humanas in vivo. El ejemplo 10 y las figuras 67 y 68 del documento WO 2019/185878 A1 muestran que 10D1F hlgG1 inhibe la proliferación in vitro de líneas celulares de cáncer de tiroides que albergan la mutación BRAF V600E.

El ejemplo 13 y las figuras 75 y 76 del documento WO 2019/185878 A1 demuestran la utilidad de 10D1F hlgG1 para ser empleado en la detección de HER3.

El ejemplo 8.4 y la figura 47A del documento WO 2019/185878 A1 muestran que 10D1F hlgG1 es termoestable y tiene una temperatura de fusión de 70,0 °C, determinada mediante fluorimetría de barrido diferencial.

Los ejemplos 9.1, 9.2 y las figuras 56, 57, 58 y 69, 70 del documento WO 2019/185878 A1 evidencian que 10D1F hlgG1 tiene perfiles farmacológicos y toxicológicos favorables.

Ejemplo 2: Producción de conjugados de anticuerpo-fármaco anti-HER3

2.1 Producción de anticuerpos

Las secuencias de ADN que codifican las regiones variables de cadena pesada y ligera de los clones de anticuerpos anti-HER3 se subclonaron en vectores multicistrónicos de mamíferos pDZ1 o pTarget2.2, que presentan mutaciones en la región Fc de IgG1 humana, o en pares de vectores de expresión que codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos relevantes. La secuencia de ADN que codifica las regiones variables de cadena pesada y ligera del anticuerpo anti-VRS Palivizumab se subclonaron en los conjuntos de vectores multicistrónicos de doble aterrizaje de mamíferos pTargetF1314 y pTargetF3F que presentan mutaciones en la región Fc de hlgG1.

Los anticuerpos se expresaron utilizando (i) el sistema de expresión transitoria ExpiCHO-S (Thermo Fisher, EE. UU.), (ii) el sistema de integración específica del sitio CHO-k1, (iii) el sistema de integración aleatoria CHO-k1 o (iv) el sistema de integración de doble plataforma de aterrizaje específica del sitio CHO-k1.

Sistema de expresión transitoria ExpiCHO-S

Las células ExpiCHO-S se obtuvieron de Thermo Fisher Scientific. Las células se cultivaron en un medio químicamente definido, libre de suero, libre de proteínas y de origen animal, con suplementación de Glutamax (ExpiCHO Expression Medium, Thermo Fisher Scientific), a 37 °C, en incubadoras con 8 % de CO₂ y 80 % humidificadas con plataforma de agitación. El subcultivo de células se realizó cuando las células alcanzaron una densidad de 4 a 6 x 10⁶ células/mL.

Las células ExpiCHO-S se transfectaron con plásmidos de expresión utilizando el kit de reactivo de transfección ExpiFectamine (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con

el protocolo del fabricante. Un día antes de la transfección, se sembraron células ExpiCHO-S en mantenimiento (densidad celular de 4 a 6 x 10⁶ células/mL) a 4 x 10⁶ células/mL en medio de expresión ExpiCHO y se dejaron crecer durante la noche. El día de la transfección, las células alcanzan una densidad de células viables de 7 a 10 x 10⁶/ml y una viabilidad superior al 95%. Diluir las células a 6 x 10⁶ células/ml de células viables utilizando medio de expresión ExpiCHO fresco para la transfección. Los complejos de ADN-ExpiFectamine se formaron en medio sin suero, Optipro SFM (Thermo Fisher Scientific), durante 1 a 5 minutos a temperatura ambiente antes de agregarlos a las células. Se agregaron ExpiFectamine CHO Enhancer y ExpiCHO feed (del ExpiFectamine Reagent Kit) a las células transfectadas entre 18 y 22 horas después de la transfección. Se administró un segundo volumen de alimento ExpiCHO a las células el día 5 después de la transfección y las células se colocaron a 32 °C. A partir del día 7 se controló la glucosa y se completó hasta 6 g/L.

Los transfectantes se recolectaron el día 14 mediante centrifugación a 4000 x g durante 10 minutos y se filtraron a través de una unidad de filtro de 0,45 µm seguida de unidades de filtro estériles de 0,22 µm.

Sistema de integración específico del sitio CHO-k1

Las células CHO-k1 que portaban de forma estable las secuencias de reconocimiento de recombinasa específicas del sitio FRT3 y FRT se mantuvieron en un medio de crecimiento químicamente definido, sin suero y disponible en el mercado, compuesto por un 50 % de medio HyQ PF CHO (Hyclone, EE. UU.), un 50 % de medio CD CHO (Gibco, EE. UU.) con 6 mM de Gln, un 0,05 % de Pluronic F68 y 600 µg/ml de G418. Las células se pasaron dos veces por semana y se cultivaron en un agitador-incubador humidificado a 37 °C, 8 % de CO₂ y 80 %.

Para las transfecciones, se cotransfectaron 5 µg de plásmido de administración circularizado pTarget2.2 que contenía secuencias de mAb, junto con 5 µg de plásmido de expresión de recombinasa FLP, en 1x10⁷ células CHO-k1 utilizando el kit 4D-Nucleofector (Lonza, Suiza) con el programa de electroporación FF-137. Las células electroporadas se cultivaron a 37 °C, en una incubadora de células estática humidificada con 5 % de CO₂ en pocillos de una placa de 6 pocillos que contenía 2 ml de medio de transfección (medio de crecimiento sin G418) durante 12 a 24 horas. El medio se intercambiaba con medio de transfección fresco 1 día después de la transfección mediante centrifugación y los cultivos se transfirieron a una incubadora con agitación. El día 5, el medio se intercambiaba completamente con medio de selección (medio de transfección con 20 µg/mL de puromicina). Una vez que mejoró la viabilidad, las células se pasaron dos veces por semana a una densidad de siembra de 5 x 10⁵ células/ml en medio de selección y, finalmente, se pasaron a 3 x 10⁵ células/ml cuando la viabilidad fue superior al 75 %. Los pools estables se establecieron cuando la viabilidad se restableció al 95% anterior. Para la expresión de mAb, el grupo establecido se cultivó en un modo de cultivo por lotes alimentados, los medios de cultivo (Cytiva, EE. UU.) se dosificaron cada día alternativo desde el día 3 al día 11 en la proporción adecuada. La glucosa se controló diariamente y se incrementó a 6 g/L cuando era inferior a 6 g/L. Los cultivos se recolectaron los días 14 y 15. El sobrenadante del cultivo celular contenía el mAb objetivo y se clarificó mediante floculación ácida o filtración profunda.

Sistema de integración aleatoria CHO-k1

La línea de células hospedadoras CHO-k1 (CCL-61) se adquirió de ATCC (EE. UU., lote n.º 58995535). Las células crecían originalmente en formato adherente y requerían un 10% de suero bovino para su proliferación. Se aplicó un protocolo de adaptación de medio de 4 etapas para adaptar las células CHO-k1 a un formato de

cultivo en suspensión y sin suero. Posteriormente, las células se adaptaron a un nuevo medio comercialmente disponible, sin suero y químicamente definido, EX-CELL Advance CHO Fed-Batch Medium (Merck, EE. UU.), para mejorar aún más el crecimiento celular. Las células adaptadas se establecieron como huéspedes de transfección y se mantuvieron en incubadoras con plataforma de agitación, a 37 °C, 8 % de CO₂ y 80 % de humidificación.

Para las transfecciones, se electroporaron 1×10^7 células CHO-k1 con 5 µg de plásmido de expresión pDZ1 linealizado utilizando el kit 4D-Nucleofector (Lonza, Suiza) con el programa de electroporación CA201. Las células electroporadas se mantuvieron a 37 °C, en una incubadora de células estática humidificada con 5 % de CO₂ en pocillos de una placa de 6 pocillos que contenía 2 ml de medio de crecimiento, durante 24 horas. El medio se intercambiaba con medio de selección fresco mediante centrifugación realizada una vez por semana a partir de las 24 horas posteriores a la transfección con una densidad de siembra de 5×10^5 células/ml en una incubadora estática. Las células se transfirieron a una incubadora-agitadora cuando se restableció la viabilidad y se pasaron dos veces por semana con una densidad de siembra de 5×10^5 células/ml. Los grupos estables se establecieron mediante una serie de intercambios de medio de selección en una incubadora estática y unos pocos pasajes en medio de selección en una incubadora con agitación. Los grupos establecidos se sometieron a un proceso de cultivo en lotes alimentados de 14 a 15 días con alimentación de medio intermedio y alimentación de glucosa para promover el crecimiento y la productividad celular. El sobrenadante del cultivo celular contenía el mAb objetivo y se clarificó mediante floculación ácida o filtración profunda.

Sistema de integración de plataforma de aterrizaje doble específica para el sitio CHO-k1

El clon de célula hospedadora 2D5 se origina a partir de CHO-K1 y transporta de forma estable las secuencias de reconocimiento de recombinasa específicas del sitio F3F y F13F14. Las células se mantuvieron en un medio de crecimiento químicamente definido, sin suero y disponible comercialmente, compuesto por 50 % de medio HyQ PF CHO (Hyclone, EE. UU.), 50 % de medio CD CHO (Gibco, EE. UU.) con 6 mM de Gln, 0,05 % de Pluronic F68, 20 µg/mL de blasticidina y 600 µg/mL de G418. Las células se pasaron dos veces por semana y se cultivaron en un agitador-incubador humidificado a 37 °C, 8 % de CO₂ y 80 %.

Para las transfecciones, se cotransfectaron 2,5 µg de plásmido de administración circularizado ptargetF3F con secuencias de mAb objetivo y 2,5 µg de plásmido de administración circular ptargetF13F14 con secuencias de mAb objetivo junto con 5 µg de plásmido de expresión de recombinasa FLP en 1×10^7 células CHO-k1 2D5 utilizando el kit 4D-Nucleofector (Lonza, Suiza) con el programa de electroporación FF-137. Las células electroporadas se mantuvieron a 37 °C, en una incubadora de células estática humidificada con 5 % de CO₂ en pocillos de una placa de 6 pocillos que contenía 2 ml de medio de transfección (medio de crecimiento sin Blasticidina y G418) durante 12 a 24 horas. El medio se intercambiaba con medio de transfección fresco 1 día después de la transfección mediante centrifugación y los cultivos se transfirieron a una incubadora con agitación. El día 5, el medio se intercambiaba completamente con medio de selección (medio de transfección con 5 µg/mL de puomicina + 200 µg/mL de Zeocina). Una vez que mejoró la viabilidad, las células se pasaron dos veces por semana a una densidad de siembra de 5×10^5 células/ml en medio de selección y, finalmente, se pasaron a 3×10^5 células/ml cuando la viabilidad fue superior al 75 %. Los pools estables se establecieron cuando la viabilidad se restableció al 95% anterior. Para la expresión de mAb, los grupos establecidos se

cultivaron en un modo de cultivo por lotes alimentados, los medios de cultivo (Cytiva, EE. UU.) se dosificaron cada día alternativo desde el día 3 al día 11 en la proporción adecuada. La glucosa se controló diariamente y se incrementó a 6 g/L cuando era inferior. Los cultivos se recolectaron los días 14 y 15. El sobrenadante del cultivo celular contenía el mAb objetivo y se clarificó mediante floculación ácida o filtración profunda.

2.2 Purificación de anticuerpos y análisis de pureza

Los anticuerpos secretados en el sobrenadante de cultivo de las células transfectadas se purificaron utilizando el sistema de cromatografía líquida AKTA Pure (Cytiva, EE. UU.). Específicamente, los sobrenadantes se cargaron en columnas mAbselect sure, o mAbselect sure LX, o mAbselect prismA (Cytiva, EE. UU.) en un tiempo de contacto de 5 a 10 minutos, seguido de un lavado de la columna con 3 a 5 volúmenes de columna de amortiguador de lavado (10 mM de fosfato de sodio + 1 M de NaCl, pH 7,2 y/o 10 mM de fosfato de sodio + 150 mM de NaCl, pH 7,0 y/o 100 mM de citrato de sodio, pH 5,5). Los mAb unidos se eluyeron con amortiguador de elución (citrato de sodio 0,1 M, pH 3,5).

Cuando el nivel de agregados/fragmentos fue superior al 8% según lo evaluado por SE-HPLC, los eluyentes se «pulieron» de la siguiente manera. Los eluyentes se mantuvieron durante 1 hora a un pH bajo para la inactivación viral, seguido de una neutralización a pH 6,9. El grupo neutralizado se diluyó aún más utilizando 20 mM MES, pH 6,9 para alcanzar una conductividad de 9,6 mS/cm, antes de cargarse en la columna de pulido Capto Adhere (Cytiva, EE. UU.). Los mAb se purificaron a través del método de flujo continuo bajo la fase móvil de 20 mM MES, 80 mM NaCl, pH 6,9. Los productos se recolectaron durante la fase de aplicación de la muestra desde el pico ascendente de 200 mAU A280 hasta el pico descendente de 135 mAU A280 en la fase de seguimiento.

Los eluyentes que tenían un nivel de agregados/fragmentos $\leq 8\%$ según lo evaluado por SE-HPLC, y las preparaciones de anticuerpos pulidos se intercambiaron en amortiguador de histidina 20 mM, sacarosa 240 mM, 0,02% (p/p) de polisorbato 80, pH 5,8 o PBS utilizando concentradores de proteínas MWCO 20K (Thermo Fisher, EE. UU.). Las preparaciones de anticuerpos monoclonales se esterilizaron pasándolas a través de un filtro de 0,1 μm , se dividieron en alícuotas y se almacenaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ antes de su uso.

La pureza del anticuerpo se analizó mediante SE-HPLC utilizando una columna Acquity UPLC protein BEH SEC 200, 1,7 μm , 4,6 mm x 150 mm (Waters, EE. UU.) bajo una fase móvil de NaCl 250 mM, fosfato de sodio 100 mM, pH 6,8, en un sistema Waters UPLC (Waters, EE. UU.). Se inyectaron 50 μg de anticuerpo en histidina 20 mM, sacarosa 240 mM, polisorbato 80 al 0,02 % (p/p), pH 5,8 o PBS, en la columna a un caudal de 0,4 mL/min a temperatura ambiente. Las proteínas se eluyeron isocráticamente de acuerdo con sus pesos moleculares.

Los resultados de SE-HPLC para los diferentes anticuerpos después de la purificación (y antes de la conjugación) se resumen a continuación:

Molécula	Secuencias de anticuerpos HC y LC	Pico principal por SE-HPLC	% 10
501c	SEQ ID NO:80 SEQ ID NO:76	94,58	
501b	SEQ ID NO:82 SEQ ID NO:76	98,95	
ISO343c	SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:98	97,89	15

ISO209b	SEQ ID NO:99 SEQ ID NO:100	96,56
---------	-------------------------------	-------

Para acceder mejor a la pureza del anticuerpo, se realizó un análisis de electroforesis capilar con dodecil sulfato de sodio (CE-SDS) en condiciones no reductoras, con un capilar de sílice fundida desnudo de 50 µm de diámetro interior x 20 cm de longitud hasta el detector (Beckman Coulter, EE. UU.) utilizando un sistema PA800 (Beckman Coulter, EE. UU.). Las muestras de anticuerpos en amortiguador bajo en sal o en amortiguador intercambiado en amortiguador de muestra SDS-MW se diluyeron a 1 mg/ml en agua destilada. Se mezclaron 45 µL de anticuerpo diluido con 57 µL de mezcla maestra compuesta por 5 µL de IAM, 50 µL de amortiguador de muestra SDS-MW y 2 µL de estándar interno de 10 kDa. La mezcla se calentó a 70°C durante 10 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Cada muestra se inyectó en el capilar durante 20 segundos a 5 kV (polaridad inversa), seguido de una separación a 15 kV (polaridad inversa), durante 30 minutos en el capilar que contenía amortiguador de gel SDS-MW. Los datos se analizaron utilizando el software de la serie 32 Karat. Los niveles de proteínas de la célula hospedadora de impurezas relacionadas con el producto se analizaron utilizando el kit ELISA CHO HCP (Cygnus, Reino Unido) siguiendo el protocolo recomendado. Brevemente, las muestras de anticuerpos o proteínas estándar se trataron con fosfatasa alcalina antes de recubrir las tiras de microtitulación que estaban pre-recubiertas con proteínas de células hospedadoras anti-CHO. Se dejó que la reacción ocurriera a temperatura ambiente durante 2 horas, seguido de múltiples lavados. Posteriormente, se añadió el sustrato PNPP y las reacciones se mantuvieron durante 90 minutos antes de leer en un lector de placas con absorbancia 405/492 nm.

Los niveles de endotoxina en las muestras de anticuerpos purificados se analizaron utilizando el instrumento Endosafe (Charles River, EE. UU.) y cartuchos Endosafe PTS en un rango de sensibilidad de 5-0,05 EU/mL (Charles River, EE. UU.), según el protocolo del fabricante.

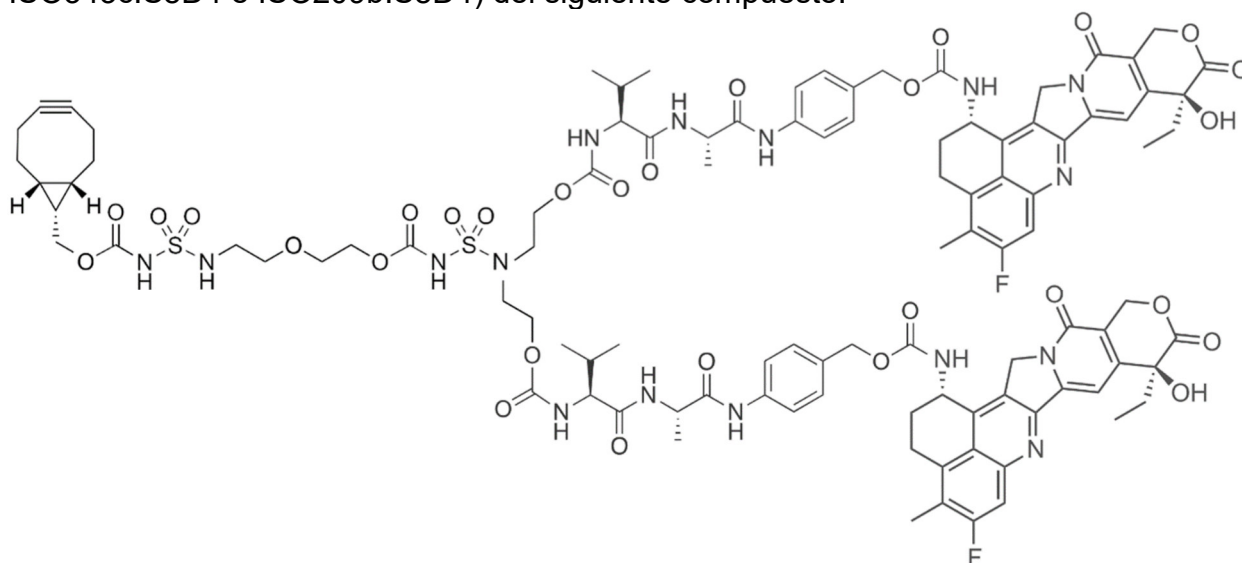
2.3 Producción de conjugados anticuerpo-fármaco

Los conjugados anticuerpo-fármaco SYNtecan E se prepararon a partir de las preparaciones de anticuerpos producidas y purificadas como se describe en los Ejemplos 2.1 y 2.2, utilizando tecnología GlycoConnect. La tecnología GlycoConnect se describe, por ejemplo, en van Geel et ál., Bioconjug Chem. (2015) 26(11):2233-2242 y WO 2021/015622 A1, ambos incorporados al presente documento como referencia en su totalidad.

Los anticuerpos (véase la tabla del Ejemplo 2.2 anterior) se dializaron en amortiguador de remodelación (histidina 20 mM, NaCl 150 mM, MnCl₂ 6 mM pH 7,5) y se incubaron (a una concentración de 15 mg/ml) con endoglicosiltransferasa SH ('EndoSH' descrita, por ejemplo, en el documento WO 2017/137459 A1, a una concentración de 0,15 mg/ml), fosfatasa alcalina (a una concentración de 0,0015 mg/ml), difosfato de orina (UDP)-6-azido-GalNAc (a una concentración de 1 mM) y transferasa GalNAc de *Trichoplusia ni* (TnGalNAcT, a una concentración de 0,45 mg/ml) durante 16 h a 30 °C, para producir anticuerpos modificados con azido en los que el N-glicano de N297 del dominio CH2 de las regiones Fc comprende un residuo terminal 6-azido-GalNAc. La conversión al anticuerpo modificado con azido se confirmó mediante análisis espectral de masas (después del tratamiento con IdeS y la detección de un fragmento Fc/2 de ~25 kDa). Los anticuerpos modificados con azido se purificaron mediante cromatografía de proteína A y se intercambiaron con amortiguador TBS pH 7,4, a una concentración de ~20 mg/ml.

La conjugación de clic sin metal de SYNtecan E se realizó incubando 10 mg/ml de la

especie de anticuerpo modificado con azido (en TBS pH 7,4) con 4 equivalentes (para la producción de 501c.S8D4 y 501b.S8D4) o 5 equivalentes (para la producción de ISO343c.S8D4 e ISO209b.S8D4) del siguiente compuesto:



en presencia de 30% de propilenglicol, a temperatura ambiente, durante la noche. Las reacciones de conjugación para la producción de 501c.S8D4 y 501b.S8D4 comprendieron además 11 mM de desoxicolato de sodio.

La conjugación exitosa se evaluó mediante HPLC de fase inversa (RP-HPLC), luego de la reducción con DTT. Cuando no se alcanzó la relación fármaco-anticuerpo (DAR) esperada de 4, las muestras se incubaron con 1,5 equivalentes adicionales del compuesto durante 5 horas más.

Los conjugados de anticuerpo-SYNtecán E se purificaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño utilizando una columna Superdex 200, utilizando PBS 7,4 como fase móvil. Las fracciones monoméricas se intercambiaron con un amortiguador que comprendía 20 mM de histidina, 6 % de sacarosa, 0,04 % de Tween 20, pH 6,0 y se esterilizaron por filtración. Luego, las muestras de los ADC se dividieron, se congelaron rápidamente y se almacenaron a -80 °C.

Los resultados de SE-HPLC para los diferentes conjugados anticuerpo-fármaco después de la purificación se resumen a continuación:

Molécula	Secuencias de anticuerpos HC y LC	Carga útil del enlazador	Pico principal % por SE-HPLC
501c.S8D4	SEQ ID NO:80 SEQ ID NO:76	SYNtecán E	>99
501b.S8D4	SEQ ID NO:82 SEQ ID NO:76	SYNtecán E	>97,3
ISO343c.S8D4	SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:98	SYNtecán E	>99
ISO209b.S8D4	SEQ ID NO:99 SEQ ID NO:100	SYNtecán E	>99

2.4 Conjugados anticuerpo-fármaco caracterizados en los Ejemplos 3 y 4

Los conjugados anticuerpo-fármaco caracterizados en los Ejemplos 3 y 4 se muestran en la siguiente tabla:

Molécula	Secuencias de anticuerpos HC y LC	Nombre de la carga útil del enlazador	Enlazador	Carga útil
----------	-----------------------------------	---------------------------------------	-----------	------------

501c.S8D4	SEQ ID NO:80 SEQ ID NO:76	SYNtecan E	HydraSpace- PEG ₂ - HydraSpace-Val- Ala-PABC	Exatecán
501b.S8D4	SEQ ID NO:82 SEQ ID NO:76	SYNtecan E	HydraSpace- PEG ₂ - HydraSpace-Val- Ala-PABC	Exatecán
Patritumab-DXd	SEQ ID NO:92 SEQ ID NO:93	Deruxtecán	Maleimida-Gly- Gly-Phe-Gly	DX-8951
ISO343c.S8D4	SEQ ID NO:97 SEQ ID NO:98	SYNtecan E	HydraSpace- PEG ₂ - HydraSpace-Val- Ala-PABC	Exatecán
ISO209b.S8D4	SEQ ID NO:99 SEQ ID NO:100	SYNtecan E	HydraSpace- PEG ₂ - HydraSpace-Val- Ala-PABC	Exatecán

En algunos de los experimentos también se empleó una molécula de control adicional que comprendía un conjugado anticuerpo-fármaco que comprendía un anticuerpo de control con isotipo coincidente unido a deruxtecán (IgG-DXd).

Ejemplo 3: Caracterización in vitro de conjugados anticuerpo-fármaco anti-HER3

3.1 Unión a HER3 en la superficie de diferentes líneas de células cancerosas

La unión de los diversos conjugados anticuerpo-fármaco (ADC) descritos en el Ejemplo 2 a diferentes líneas celulares se evaluó mediante citometría de flujo.

Se evaluó la unión a células de las siguientes líneas celulares:

Línea celular	Nivel de expresión de HER3
HCT116 (CVCL_0291)	Bajo
DU145 (CVCL_0105)	Bajo
H358 (CVCL_1559)	Medio
T-47D (CVCL_0553)	Alto
OVCAR8 (CVCL_1629)	Alto

Brevemente, las células se sembraron a 100.000 células/pocillo en pocillos de placas de fondo redondo de 96 pocillos y se incubaron (durante 1 hora a 4 °C) con 8 concentraciones diferentes de anticuerpos y ADC, en una serie de dilución triple (en PBS) a partir de una concentración más alta de 2 µg/ml.

Posteriormente, las células se lavaron dos veces con amortiguador FACS (PBS + 5 mM EDTA y 0,5 % BSA) y luego se incubaron con anticuerpo secundario F(ab')₂-cabra anti-IgG humana Fc, Alexa Fluor 488 (dilución 1:2000 en amortiguador FACS) durante 1 hora a 4 °C.

Posteriormente, las células se lavaron dos veces con amortiguador FACS y se analizaron mediante citometría de flujo utilizando Cytex Northern Light. Se registraron las intensidades de fluorescencia medias para las poblaciones de células positivas para Alexa Fluor 488 y los valores de EC₅₀ para la unión a células de las diferentes líneas celulares se derivaron de las curvas de unión.

Los resultados se muestran en las Figuras 1A a 1F. Los ADC que comprenden anticuerpos anti-HER3 mostraron unión a todas las líneas celulares que expresan HER3 analizadas. 501b.S8D4 y 501c.S8D4 mostraron una mejor unión a la superficie celular en 4/5 líneas celulares analizadas en comparación con Patritumab-DXd, como lo evidencian sus valores de EC₅₀ más bajos.

3.2 Unión a HER3 en la superficie de diferentes líneas de células cancerosas en presencia de NRG1

La unión de los ADC descritos en el Ejemplo 2 a varias líneas celulares en presencia del ligando HER3 NRG1 se evaluó mediante citometría de flujo.

Brevemente, se sembraron células a 100.000 células/pocillo en pocillos de placas de fondo redondo de 96 pocillos y se incubaron (durante 3 horas a 4 °C) con 8 concentraciones diferentes de NRG1 humana recombinante, en una serie de diluciones de 2 veces (en PBS) a partir de una concentración más alta de 640 ng/ml y en presencia de 2 µg/ml del conjugado anticuerpo-fármaco relevante.

Posteriormente, las células se lavaron dos veces con amortiguador FACS (PBS + 5 mM EDTA y 0,5 % BSA) y luego se incubaron con anticuerpo secundario F(ab')₂-cabra anti-IgG humana Fc, Alexa Fluor 488 (dilución 1:2000 en amortiguador FACS) durante 1 hora a 4 °C.

Posteriormente, las células se lavaron dos veces con amortiguador FACS y se analizaron mediante citometría de flujo utilizando Cytex Northern Light. Se registraron las intensidades de fluorescencia medias para las poblaciones de células positivas para Alexa Fluor 488.

Los resultados se muestran en las Figuras 2A a 2D. Se encontró que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraban una unión nativa significativamente mayor a las células de las diversas líneas celulares que expresaban HER3 que Patritumab-DXd, en presencia de NRG1.

3.3 Unión a receptores Fcγ recombinantes

Los ADC descritos en el Ejemplo 2 se analizaron para determinar su capacidad de unirse a los receptores Fcγ humanos mediante resonancia de plasmones superficiales utilizando Biacore.

Brevemente, se empleó un kit de captura Biacore HIS (Cytivia, Cat. #28995056) para inmovilizar el ligando del receptor Fcγ humano recombinante marcado con His (FcγRIA, FcγRIIA o FcγRIIIA) sobre la superficie de un chip sensor CM5. Se aplicaron 5 concentraciones en una serie de diluciones de medio logaritmo de los diferentes analitos – Patritumab-DXd, 501b.S8D4, 501c.S8D4, un anticuerpo de isotipo coincidente IgG1 humano (control positivo) y un anticuerpo de isotipo coincidente IgG1 humano que comprende mutaciones silenciadoras de Fc (como control negativo) – a los chips, a un caudal de 30 µl/min, durante 60 segundos de asociación y 600 segundos de disociación. La captura y el análisis de datos se realizaron utilizando Biacore T200 de acuerdo con las recomendaciones del fabricante para analizar la cinética antígeno-anticuerpo de alta afinidad. En las respuestas de todos los pasos se restaron las células de referencia y se corrigió la concentración cero para normalizar las perturbaciones sistemáticas. Las curvas de asociación y disociación resultantes se ajustaron con un ajuste global 1:1 para obtener valores de la tasa de asociación (k_a), la tasa de disociación (k_d) y la constante de disociación de equilibrio (K_D).

Los resultados se muestran en las Figuras 3A y 3B. 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraron una abrogación completa de la unión a FcγRIA, FcγRIIA y FcγRIIIA. Patritumab-DXd se unió significativamente a los tres FcγR con valores de K_D comparables al control positivo.

A continuación, se evaluó la unión mediada por Fc de 501c.S8D4 a PBMC humanas en comparación con patritumab-DXd. La unión de ADC mediada por Fc a células normales, incluidas las células hematopoyéticas, podría provocar trombocitopenia grave, neutropenia, anemia y muchos otros eventos adversos.

Los ADC se marcaron con un fluorocromo APC (rojo) utilizando un kit de conjugación de APC. Se obtuvieron PBMC de 3 donantes diferentes. Se añadieron 100 µl de

Zombie NIR™ Fixable Viability Dye (Biolegend, n.º 423106) por cada millón de células a una dilución de 1:3000 usando amortiguador FACS (BSA al 0,5 % con EDTA 4 mM en PBS) y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadieron 100.000 células/pocillo a placas de fondo redondo de 96 pocillos y se incubaron en presencia de 3 concentraciones diferentes (30, 10 y 3 µg/ml) de 501c.S8D4 marcado, patritumab-DXd y control de isotipo IgG1-DXd (positivo) durante 1 h a 4 °C. Después de la incubación, se lavaron las células y se cuantificó la unión a la superficie celular mediante citometría de flujo con Cytex Northern Light 3000. La intensidad de fluorescencia media (MFI) se calculó y graficó utilizando Graphpad Prism.

La Figura 16 muestra que IgG-DXd muestra la mayor unión a las PBMC, porque este control de isotipo no se une a ninguna proteína de superficie celular conocida en humanos; se espera que cualquier unión observada esté mediada por Fc (como con cualquier isotipo IgG1). 501c.S8D4 mostró una unión significativamente (81 %) menor en comparación con patritumab-DXd en las PBMC de los tres donantes.

En conclusión, 501c.S8D4 muestra una unión significativamente reducida a las PBMC humanas, lo que indica una captación mediada por Fc reducida por las células sanas y un riesgo reducido de toxicidades asociadas.

3.4 Efecto sobre la proliferación de células que expresan HER3 en un ensayo de proliferación in vitro 3D

Se evaluó el efecto de varios ADC descritos en el Ejemplo 2 sobre la proliferación de células T47D (CVCL_0553), células H358 (CVCL_1559) y células HCT116 (CVCL_0291) en un ensayo de proliferación in vitro 3D.

Brevemente, las células se sembraron a 2000 células/pocillo en medio RPMI + 10 % FBS durante la noche a 37 °C, 5 % de CO₂. Después de 3 días, se agregaron 100 ng/ml de NRG1 humano recombinante a algunos de los cultivos y luego las células se trataron con una serie de dilución de 10 puntos y 5 veces de ADC/anticuerpo a partir de 50 µg/ml. Luego, las placas se incubaron a 37 °C en CO₂ al 5% durante 7 días.

Posteriormente se evaluó la viabilidad celular utilizando el Cell Counting Kit-8 (Dojindo, #SKU-CK04), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se agregaron 20 µl de reactivo CCK8 a cada pocillo y las placas se leyeron con un lector de placas Biotek a las 2 h, 4 h y 6 h después de la adición del reactivo CCK8. El porcentaje de inhibición de la proliferación celular se calculó en relación con las lecturas obtenidas en presencia de la concentración más baja del fármaco o del amortiguador únicamente (es decir, en ausencia de ADC/anticuerpo). Los puntos de datos muestran la media de tres réplicas por condición. Los valores de IC₅₀ para la inhibición de la proliferación celular se derivaron de las curvas de unión.

Los resultados se muestran en las Figuras 4A, 4B, 5A y 5B.

Se descubrió que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 inhiben la proliferación de células T47D que expresan HER3 en un grado similar al de Patritumab-DXd (Figura 4A). Ninguno de los conjugados fármaco-anticuerpo anti-HER3 inhibió sustancialmente la proliferación de células HCT116, que expresan niveles bajos de HER3 (Figura 4B).

En ausencia de NRG1, 501b.S8D4 (IC₅₀ = 0,45 nM) y 501c.S8D4 (IC₅₀ = 0,59 nM) mostraron un nivel similar de inhibición de la proliferación celular, en comparación con Patritumab-DXd (0,93 nM; consulte las Figuras 5A y 5B).

En presencia de NRG1, 501c.S8D4 (IC₅₀ = 0,71 nM) mostró una inhibición superior de la proliferación celular en comparación con Patritumab-DXd (IC₅₀ = 2,2 nM; Figura 5B), mientras que 501b.S8D4 mostró un nivel de inhibición similar en comparación con Patritumab-DXd (Figura 5A).

En conjunto, estos datos indican que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 son eficaces para inhibir la proliferación de células que expresan HER3 in vitro, con efectos comparables

o mejorados en relación con Patritumab-DXd.

3.5 Estabilidad del plasma

Se investigó la estabilidad de 501c.S8D4 y 501b.S8D4 en plasma.

Brevemente, se incubaron 100 µl de 501c.S8D4 o 501b.S8D4 a una concentración de 100 µg/mL en plasma de ratón durante 0, 3, 7, 10, 14 y 21 días, a 37 °C. Se recogieron muestras en puntos de tiempo regulares.

Los anticuerpos se capturaron por afinidad de las muestras mediante la adición de 4 µg de HER3 marcado con HIS (Sino Biological 10201-H08H) a 50 µl de cada muestra, seguido de la adición de 40 µl de mAb anti-etiqueta HIS lavado con DPBS, perlas magnéticas (MBL, D291-11). Las muestras se incubaron con rotación durante 2 horas a 4 °C y se utilizaron soportes magnéticos para aislar los ADC inmovilizados que capturaron las perlas. Las perlas se lavaron con 100 µl de DPBS helado y los ADC capturados se eluyeron con 50 µl de solución que contenía 30 % de acetonitrilo y 1 % de ácido fórmico en agua MilliQ.

Se utilizaron muestras de 2 µl de los ADC eluidos para la evaluación por espectrometría de masas por cromatografía líquida (LCMS) con el fin de determinar el porcentaje del ADC detectado que conserva la relación anticuerpo-fármaco correcta de 4.

Los resultados se muestran en la Figura 6. 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraron una buena estabilidad durante la duración del estudio, con una proporción constantemente alta de especies DAR4.

3.6 Internalización en células que expresan HER3

Se evaluó la capacidad de 501c.S8D4 para internalizarse y transportarse a los lisosomas en la línea de células de cáncer de mama HER3-positiva, T47D.

Se realizó microscopía de fluorescencia en células T47D (30.000 células/pocillo) tratadas con 501c.S8D4 marcado con APC (rojo) a 37 °C durante 0,5, 4 y 16 h para estudiar la localización de 501c.S8D4. Un conjunto de células se incubó con 501c.S8D4 marcado con APC a 4 °C durante 1 hora como control negativo, ya que la endocitosis no ocurre a esta temperatura. Después de la incubación durante los puntos de tiempo mencionados anteriormente, las células se lavaron, se fijaron y se permeabilizaron. A continuación, las células se tiñeron con un anticuerpo anti-LAMP1 marcado con FITC (fluorescencia verde), que es un marcador de los lisosomas. Las células se fotografiaron a 40X utilizando un microscopio de fluorescencia Leica (DMI8) y se procesaron utilizando el generador de imágenes Thunder. En este ensayo, la fluorescencia roja muestra la localización de 501c.S8D4, la fluorescencia verde muestra la localización de los lisosomas y un color amarillo indica la colocalización de 501c.S8D4 y los lisosomas.

Los resultados se muestran en la Figura 13. El panel superior de la Figura 13 muestra que 501c.S8D4 está localizado en la superficie celular a 4°C, lo que indica unión a la superficie celular HER3 sin ninguna internalización observable. Tras la incubación a 37 °C, 501c.S8D4 se internaliza rápidamente (en 30 minutos), como lo muestra la tinción punteada (que indica la localización dentro de los compartimentos endosomales). Además, un análisis de superposición de las señales de 501c.S8D4 (arriba) y del marcador lisosomal (medio) muestra que 501c.S8D4 se transporta a los lisosomas en 4 horas y permanece en los lisosomas hasta 16 horas en las células T47D, como lo muestran las señales de colocalización en los paneles fusionados (abajo).

Por tanto, 501c.S8D4 se internaliza rápidamente tras la incubación a 37 °C (en 30 minutos) y se observa en los lisosomas durante hasta 16 horas.

Luego se evaluó la tasa de internalización. Se utilizó un tinte fluorescente dependiente

del pH (Human Fabfluor-pH Red (Sartorius, #4722) para marcar 501c.S8D4. El colorante fluoresce solo a un pH bajo (4,5-5,5), que es el pH dentro de las vesículas endocíticas. Dado que el pH de la superficie celular es de alrededor de 7, la señal fluorescente solo se puede detectar tras la internalización del 501c.S8D4 marcado en las vesículas endocíticas. La señal máxima se produce cuando el colorante llega a los lisosomas con el pH más bajo de 4,5. La tasa de internalización de un anticuerpo o ADC se determinó midiendo la señal fluorescente a lo largo del tiempo.

La internalización de 501c.S8D4 se midió utilizando imágenes de células vivas en células T47D tratadas con 501c.S8D4 marcado con Fab-flúor (fluorescencia roja). Se sembraron 6000 células T47D/pocillo en una placa de 96 pocillos en medio RPMI + 10% FBS durante 48 h a 37 °C en presencia de 5% de CO₂. 12,5 nM de 501c.S8D4 se conjugó con Fabfluor durante 15 min a 37 °C en una proporción de 1:3 (ADC:Fabfluor). Se añadieron 100 µl de 501c.S8D4 conjugado a las células. Luego, la placa se incubó a 37 °C en presencia de 5 % de CO₂ durante 2 días dentro del sistema de análisis de células vivas Incucyte® SX5. Se capturaron 4 imágenes por pocillo cada 30 minutos durante el período de incubación. Las imágenes se analizaron utilizando un software de análisis célula por célula (Incucyte) y se midió la intensidad media de fluorescencia roja por célula. Los valores se normalizaron al día 0 y los datos se graficaron como porcentaje de la intensidad media del rojo utilizando GraphPad PRISM.

Los resultados se muestran en la Figura 14. 501c.S8D4 se internaliza muy rápidamente y alcanza niveles de saturación en 12 h. La señal máxima se observa cuando 501c.S8D4 ha alcanzado los lisosomas y la señal comienza a disminuir debido a la degradación lisosomal de 501c.S8D4 después de 24 h.

Por tanto, 501c.S8D4 se internaliza rápidamente y alcanza la saturación en 12 h en las células T47D.

3.7 Macropinocitosis de ADC por megacariocitos

Se evaluó la captación no dependiente del objetivo de 501c.S8D4 por megacariocitos (MK) derivados de células madre humanas (HSC) a través de macropinocitosis. Se utilizó un colorante fluorescente dependiente del pH (Fab-Flúor, rojo; Sartorius, n.º 4722) para marcar 501c.S8D4, que fluoresce solo a un pH bajo (4,5-5,5), es decir, el pH dentro de las vesículas endocíticas. Dado que el pH de la superficie celular es de alrededor de 7, la señal fluorescente solo se puede detectar tras la internalización del 501c.S8D4 marcado en las vesículas endocíticas de MK.

La trombocitopenia, es decir, la pérdida de plaquetas, es un efecto secundario muy común informado en pacientes con cáncer tratados con ADC, incluido patritumab-DXd, que es un ADC HER3 en estadio clínico con una clase de carga útil similar. Las plaquetas son producidas por MK que se derivan de las HSC en la médula ósea. La captación de ADC mediada por macropinocitosis por MK impide la producción de plaquetas, lo que eventualmente conduce a trombocitopenia. Por lo tanto, se estudió 501c.S8D4 para determinar si la captación mediada por macropinocitosis ocurre con el tratamiento con 501c.S8D4 y cómo se compara con patritumab-DXd.

Las HSC de tres donantes diferentes se expandieron y se transdiferenciaron a MK. Luego, las MK se sembraron en una placa de 96 pocillos (20.000 células/pocillo) y se incubaron durante 24 horas en medio SFEM II (STEMcell technologies, n.º 9655), suplemento de expansión StemSpan MK (STEMcell technologies, n.º 2696), 10 ng/ml de IL1 y 10 ng/ml de IL3 a 37 °C, con 5 % de CO₂. Se añadieron 100 µl de patritumab-DXd marcado con Fab-Flúor o 501c.S8D4 (relación 1:3 de artículo de prueba: Fab-Flúor) a las células y se midió la fluorescencia roja en tiempo real utilizando imágenes de células vivas durante 24 horas, con 4 imágenes/pocillo capturado cada 30 minutos.

La intensidad roja media se graficó en función del tiempo después de normalizar al tiempo 0 ($t = 0$). Estos valores se graficaron como porcentaje de la intensidad media del rojo de los tres donantes utilizando GraphPad PRISM para obtener las curvas de internalización durante 24 horas. El área bajo la curva es directamente proporcional a la cantidad total de ADC internalizadas en los megacariocitos.

Como se muestra en la Figura 15, la captación dependiente de macropinocitosis de 501c.S8D4 por los megacariocitos es significativamente (30%) menor que la captación de Patritumab-DXd.

Estos datos indican que la captación reducida de 501c.S8D4 podría contribuir potencialmente a reducir la trombocitopenia en humanos.

Ejemplo 4: Caracterización in vivo de conjugados anticuerpo-fármaco anti-HER3

4.1 Eficacia antitumoral in vivo

La eficacia terapéutica de varios ADC descritos en el Ejemplo 2 se investigó in vivo, en un modelo de xenoinjerto derivado de una línea de células de cáncer humano de adenocarcinoma de pulmón, H358.

Se alojaron ratones Ncr Nude hembras de aproximadamente 6 a 8 semanas de edad en condiciones específicas libres de patógenos y se trataron de conformidad con las pautas del Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (IACUC). Los tumores derivados de células H358 (CVCL_1559) se establecieron mediante la mezcla de 5×10^6 células con un volumen igual de Matrigel (Corning, EE. UU.) e implantación subcutánea en los flancos derechos de los ratones. El tratamiento se inició cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 150 a 160 mm^3 . A los ratones se les administró por vía intravenosa una dosis única de 3 mg/kg de peso corporal de la molécula de unión al antígeno relevante el día 1. Había 7 ratones por grupo de tratamiento.

El volumen del tumor se midió 3 veces por semana utilizando un calibrador Vernier digital y se calculó utilizando la fórmula $[L \times W^2/2]$. El punto final del estudio se alcanzó una vez que los tumores del grupo de control alcanzaron un volumen de $>1,5 \text{ cm}^3$.

Los resultados de los experimentos se muestran en la Figura 7. 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraron una inhibición significativa del crecimiento de los tumores H358 CDX (que expresan HER3 a un nivel medio de expresión). 501b.S8D4 mostró un nivel similar de inhibición del crecimiento tumoral que Patritumab-DXd, y 501c.S8D4 mostró un nivel mejorado de inhibición del crecimiento tumoral en comparación con Patritumab-DXd. Por lo tanto, a pesar de tener una menor relación fármaco-anticuerpo (DAR) de 4 en comparación con Patritumab-DXd, que tiene una DAR de 8, 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraron una inhibición del crecimiento tumoral similar o mejorada en comparación con Patritumab-DXd. Estos datos indican que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 tienen una eficacia superior a Patritumab-DXd en este modelo H358 CDX. Además, la supresión tumoral mostrada por 501c.S8D4 y 501b.S8D4 fue mucho más prolongada que para Patritumab-DXd, lo que sugiere que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 podrían ser más estables que Patritumab-DXd in vivo.

En otro experimento in vivo, se establecieron tumores derivados de células T47D (CVCL_0553) en ratones NOD/SCID hembra de 6 a 8 semanas de edad mediante la mezcla de 1×10^7 células con un volumen igual de Matrigel (Corning, EE. UU.) e implantación subcutánea en los flancos derechos de los ratones. Como estas células tumorales dependen del estrógeno para su crecimiento, se implantaron pellets de estrógeno de liberación lenta (60 días) un día antes de la implantación del tumor (Ruan et al., Maturitas. (2019) 123:1-8). El tratamiento se inició cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 150 a 250 mm^3 . Había 7 ratones por grupo de tratamiento. A los ratones se les administró por vía intravenosa una dosis única de la molécula de unión al antígeno relevante el día 1, de la siguiente manera:

Grupo 1: Solo vehículo (PBS)

Grupo 2: Patritumab-DXd, 1,5 mg/kg de peso corporal

Grupo 3: Patritumab-DXd, 4,5 mg/kg de peso corporal

Grupo 4: 501b.S8D4, 3 mg/kg de peso corporal

Grupo 5: 501b.S8D4, 9 mg/kg de peso corporal

Grupo 6: 501c.S8D4, 3 mg/kg de peso corporal

Grupo 7: 501c.S8D4, 9 mg/kg de peso corporal

El volumen del tumor se midió tres veces por semana como se describió anteriormente.

Los resultados se muestran en las Figuras 8A y 8B. 3 mg/kg de peso corporal de 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraron una inhibición del crecimiento tumoral significativamente mayor en comparación con Patritumab-DXd en una dosis de carga útil equivalente (es decir, 1,5 mg/kg de peso corporal de Patritumab-DXd).

9 mg/kg de peso corporal 501c.S8D4 y 501b.S8D4 mostraron una inhibición del crecimiento tumoral similar a Patritumab-DXd en una dosis de carga útil equivalente (es decir, 4,5 mg/kg de peso corporal de Patritumab-DXd).

En conjunto, estos datos sugieren que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 poseen una eficacia superior in vivo en el modelo derivado de la línea celular T47D.

4.2 Análisis de toxicología

Se han observado toxicidades que incluyen enfermedad pulmonar intersticial grave (EPI) y citopenia de alto grado después de la administración de Patritumab-DXd (Jänne et ál., *Cancer Discov.* (2022) 12(1):74-89). Estas toxicidades podrían surgir como consecuencia de la captación de ADC mediada por el receptor Fcγ y/o la macropinocitosis por células normales, no cancerosas (Zhao et ál., *Mol Cancer Ther* (2017) 16(9): 1866–1876; Kumagai et ál., *Cancer Sci.* (2020) 111(12): 4636–4645; Zhao et ál., *Mol Cancer Ther* (2017) 16(9): 1877–1886).

Se evaluó la toxicidad de varias ADC descritas en el Ejemplo 2 en ratas Sprague Dawley hembras. Los grupos de tratamiento fueron los siguientes:

Grupo 1: Solo vehículo

Grupo 2: 501b.S8D4

Grupo 3: 501c.S8D4

Se administraron ADC o un volumen igual de vehículo mediante inyección intravenosa lenta en la vena de la cola. Se administró una primera dosis de 60 mg/kg de peso corporal el día 1 y una segunda dosis de 53 mg/kg de peso corporal el día 8. Había 3 ratones por grupo de tratamiento.

Se monitoreó la supervivencia, el peso corporal y el consumo de alimentos. Se recogieron muestras de sangre para análisis los días 4 y 11, y se realizaron necropsias completas el día 11.

La salud de las ratas tratadas, incluidos los signos clínicos, el peso corporal, el consumo de alimentos y la mortalidad, se controlaron todos los días después del tratamiento y se registraron. Se recolectaron tejidos que incluían hígado, riñón, pulmón, cerebro, médula ósea, piel, estómago, intestino delgado y grueso y cualquier tejido con lesiones macroscópicas y se procesaron para realizar un análisis histopatológico en busca de daño tisular.

Todos los ratones de cada grupo de tratamiento sobrevivieron durante los 11 días completos del experimento. No se observó ninguna pérdida significativa de peso corporal ni cambios en el consumo de alimentos durante el período de tratamiento.

Se encontró que los recuentos de glóbulos rojos, la concentración de hemoglobina, el porcentaje de hematocrito, el volumen corpuscular medio (VCM), el nivel de hemoglobina corpuscular media (CHM) y la concentración de hemoglobina

corpuscular media (CHCM) no diferían significativamente entre las muestras de sangre obtenidas de ratas de los grupos 1, 2 y 3 (Figuras 9A a 9F). Las ratas de los grupos 2 y 3 no mostraron ningún signo significativo de neutropenia (Figura 10D) o trombocitopenia (Figura 10E), que se informaron previamente en estudios clínicos de Patritumab-DXd (Steuer et ál., *Journal of Clinical Oncology* (2022) 40 (16_suppl) 9017; Jänne et ál., *Cancer Discov* (2022) 12(1):74-89) – consulte las Figuras 10A a 10E. Anteriormente se informó una reducción significativa en los recuentos de glóbulos blancos en estudios preclínicos de Patritumab-DXd en ratas (Hashimoto et ál., *Clin Cancer Res.* (2019) 25(23):7151-7161), sin embargo, en el presente estudio se observó un aumento en los recuentos de glóbulos blancos en los Grupos 2 y 3 en relación con el Grupo 1 (Figura 10A).

La evaluación de los marcadores bioquímicos de daño hepático, renal y pancreático no reveló diferencias significativas entre las ratas de los grupos 1, 2 y 3 (Figuras 11A a 11F). Por el contrario, previamente se ha detectado un aumento significativo en los niveles de transaminasas (marcadores de daño hepático) en la evaluación preclínica de Patritumab-DXd (Hashimoto et ál., *Clin Cancer Res.* (2019) 25(23):7151-7161).

Finalmente, se encontró que los niveles de varios electrolitos no diferían significativamente entre las muestras de sangre obtenidas de ratas de los grupos 1, 2 y 3 (Figuras 12A a 12D).

En conjunto, los datos de los estudios toxicológicos actuales indican que es probable que 501c.S8D4 y 501b.S8D4 tengan una tolerabilidad mejorada en comparación con Patritumab-DXd en ratas.