

Reivindicaciones

1. Una molécula similar a un anticuerpo que se une específicamente a la primera y segunda dianas, en la que dicha molécula similar a un anticuerpo comprende:

1) un primer fragmento de unión a antígeno que se une específicamente a la primera diana y comprende:

a) la cadena ligera del primer fragmento de unión a antígeno, cuya cadena ligera comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera;

y

b) la cadena pesada del primer fragmento de unión a antígeno, cuya cadena pesada comprende un dominio variable de cadena pesada y dominios constantes de cadena pesada de anticuerpo que incluyen un primer dominio constante de cadena pesada (CH1) y un monómero de fragmento Fc que comprende segundos (CH2) y terceros (CH3) dominios constantes de cadena pesada;

y

2) un segundo fragmento de unión a antígeno que se une específicamente a la segunda diana y comprende:

(i) a) la cadena ligera del segundo fragmento de unión a antígeno, cuya cadena ligera comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante que es $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2M$) de la proteína CD1b humana (grupo de diferenciación 1) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1;

y

b) la cadena pesada del segundo fragmento de unión a antígeno, cuya cadena pesada comprende un dominio variable de cadena pesada, un dominio constante que es el dominio $\alpha 3$ proximal a la membrana de la proteína CD1b humana con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, y un monómero de fragmento Fc que comprende los dominios constantes de cadena pesada segundo (CH2) y tercero (CH3);

o

(ii) a) la cadena ligera del segundo fragmento de unión a antígeno, cuya cadena ligera comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante que es el dominio $\alpha 3$ proximal a la membrana de la proteína CD1b humana con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

y

b) la cadena pesada del segundo fragmento de unión a antígeno, cuya cadena pesada comprende un dominio variable de cadena pesada, un dominio constante que es $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2M$) de la proteína CD1b humana con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y un monómero de fragmento Fc que comprende segundos (CH2) y terceros (CH3) dominios constantes de cadena pesada;

en el que la microglobulina $\beta 2$ ($\beta 2M$) de la proteína CD1b humana con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y el dominio $\alpha 3$ proximal a la membrana de la proteína CD1b humana con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 forman entre sí un heterodímero que está estabilizado por un enlace disulfuro.

2. La molécula similar a un anticuerpo según la reivindicación 1, en la que el dominio CH3 de una cadena pesada y el dominio CH3 de otra cadena pesada entran en contacto a través de superficies

modificadas para formar la molécula similar a un anticuerpo, en la que dichas modificaciones en los dominios CH3 de las cadenas pesadas son sustituciones para permitir la heterodimerización.

3. La molécula similar a un anticuerpo según la reivindicación 2, en la que

a) el dominio CH3 de una cadena pesada, se modifica de modo que en la superficie del dominio CH3 de una cadena pesada que entra en contacto con la superficie del dominio CH3 de otra cadena pesada en la molécula similar a un anticuerpo, el residuo de aminoácido se sustituye por un residuo de aminoácido que tiene un mayor volumen de cadena lateral, lo que conduce a la formación de un botón en la superficie del dominio CH3 de una cadena pesada que puede encajar en un ojal en la superficie del dominio CH3 de otra cadena pesada,

y

b) el dominio CH3 de otra cadena pesada se modifica de modo que en la superficie del dominio CH3 de la segunda cadena pesada que entra en contacto con la superficie del dominio CH3 de la primera cadena pesada en la molécula similar a un anticuerpo, el residuo de aminoácido se sustituye por un residuo de aminoácido que tiene un volumen de cadena lateral menor, lo que conduce a la formación de un ojal en la superficie del dominio CH3 de la segunda cadena pesada capaz de encajar un botón en la interfaz del dominio CH3 de la primera cadena pesada;

en el que dicho residuo de aminoácido que tiene un volumen de cadena lateral más grande se selecciona de un grupo que incluye arginina (R), fenilalanina (F), tirosina (Y), triptófano (W),

y en el que dicho residuo de aminoácido que tiene un volumen de cadena lateral más pequeño se selecciona de un grupo que incluye alanina (A), serina (S), treonina (T), valina (V).

4. La molécula similar a un anticuerpo según la reivindicación 1, en la que el primer dominio constante de la cadena ligera de la molécula similar al anticuerpo se selecciona entre CK o CL.

5. La molécula similar a un anticuerpo según la reivindicación 1, en la que los dominios CH3 de la molécula similar a un anticuerpo se modifican mediante la introducción de cisteína (C) como aminoácido en las posiciones correspondientes de cada dominio CH3, de modo que pueda formarse un puente disulfuro entre ambos dominios CH3.

6. La molécula similar al anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 2-3, en la que el dominio CH3 de una cadena pesada se modifica para formar el botón (Knob), y el dominio CH3 de otra cadena pesada se modifica para formar el ojal (Hole), o viceversa.

7. La molécula similar a anticuerpo según la reivindicación 6, en la que el dominio CH3 de una cadena pesada tiene sustituciones de aminoácidos S354C/T366W según el esquema de numeración UE para aminoácidos de anticuerpos, y el dominio CH3 de otra cadena pesada tiene sustituciones de aminoácidos Y349C/T366S/L368A/Y407V según el esquema de numeración UE para aminoácidos de anticuerpos.

8. La molécula similar a anticuerpo según la reivindicación 6, en la que el dominio CH3 de una cadena pesada tiene sustituciones de aminoácidos Y349C/T366S/L368A/Y407 según el esquema de numeración UE para aminoácidos de anticuerpos, y el dominio CH3 de otra cadena pesada tiene sustituciones de aminoácidos S354C/T366W según el esquema de numeración UE para aminoácidos de anticuerpos.

9. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 1, en la que el fragmento Fc pertenece a IgG.

10. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 9, en la que el isotipo del fragmento Fc se selecciona del grupo: IgG1, IgG2 o IgG4 humanas.

11. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 1, en la que el monómero de fragmento Fc comprende sustituciones que no conducen a propiedades ADCC, CDC y/o ADCP en la molécula similar al anticuerpo.

12. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 11, en la que el monómero de fragmento Fc comprende sustituciones L234A y L235A según el esquema de numeración de la UE para aminoácidos de anticuerpos.

13. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 1, en la que el monómero del fragmento Fc comprende sustituciones que conducen a una acción prolongada de la molécula similar al anticuerpo.

14. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 13, en la que el monómero de fragmento Fc comprende sustituciones M252Y, S254T y T256E según el esquema de numeración de la UE para aminoácidos de anticuerpos.

15. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 1, en la que el monómero de fragmento Fc comprende sustituciones que conducen a propiedades ADCC, CDC y/o ADCP mejoradas en la molécula similar al anticuerpo.

16. La molécula similar al anticuerpo según la reivindicación 15, en la que el monómero de fragmento Fc comprende la sustitución E345R según el esquema de numeración de la UE para aminoácidos de anticuerpos.

17. La molécula similar al anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en la que la primera y segunda dianas pueden seleccionarse cada una independientemente de un grupo que comprende: CD20, BCMA, PD-1, PD-L1, CD47, GD2, AXL, TGF beta, CSF1R, factor de coagulación sanguínea 9 (FIX), factor de coagulación sanguínea 10 (FX), TNF alfa, IL17A, IL17F o CD3.

18. La molécula similar al anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en la que la molécula similar al anticuerpo es una molécula similar al anticuerpo multiespecífica.

19. La molécula similar al anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en la que la molécula similar al anticuerpo es una molécula similar al anticuerpo biespecífica, trispecífica, tetraespecífica, pentaspecífica, hexaspecífica, heptaspecífica, octaspecífica o no específica.

20. La molécula similar a anticuerpo según una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en la que la molécula similar al anticuerpo es una molécula similar al anticuerpo biespecífica bivalente.

21. Un ácido nucleico aislado que codifica la molécula similar al anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

22. El ácido nucleico aislado según la reivindicación 21, en el que el ácido nucleico es ADN.

23. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 21-22.

24. Un método para producir una célula huésped para producir la molécula similar al anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-20, que comprende la transformación celular por el vector según la reivindicación 23.

25. Una célula huésped para producir la molécula similar al anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-20, que comprende el ácido nucleico según las reivindicaciones 21-22.

26. Un método para producir la molécula similar al anticuerpo según las reivindicaciones 1-20, en el que el método comprende los siguientes pasos de:

a) transformar una célula huésped

- con vectores de expresión que comprenden moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas ligeras y pesadas del primer fragmento de unión al antígeno de la molécula similar al anticuerpo,

- con vectores de expresión que comprenden moléculas de ácido nucleico que codifican las cadenas ligeras y pesadas del segundo fragmento de unión al antígeno de la molécula similar al anticuerpo,

b) cultivo de la célula huésped en condiciones adecuadas para la síntesis de dicha molécula similar al anticuerpo; y

c) aislar dicha molécula similar a un anticuerpo a partir de un cultivo celular.