

**ANTAGONISTAS DE FcRn MEJORADOS PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES Y
TRASTORNOS RELACIONADOS CON IGG**

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a antagonistas de FcRn que se unen al receptor de Fc neonatal (FcRn) e interfieren con la unión de los ligandos naturales de FcRn, la región Fc de la IgG.

En particular, la presente invención se refiere a antagonistas de FcRn nuevos y mejorados que comprenden al menos dos polipéptidos, un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo en FcRn y un segundo polipéptido que compite con la región Fc de la IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

La invención se refiere además a ácidos nucleicos que codifican dichas moléculas o parte de dichas moléculas; a células hospedadoras que comprenden dichos ácidos nucleicos y/o que expresan o son capaces de expresar dichos antagonistas de FcRn; a composiciones y, en particular, a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos antagonistas de FcRn, ácidos nucleicos y/o células hospedadoras; y a usos de tales moléculas, ácidos nucleicos, células hospedadoras y/o composiciones, en particular con fines terapéuticos.

ANTECEDENTES TECNOLÓGICOS

El receptor de Fc neonatal (FcRn) es una proteína asociada a beta (β)-2-microglobulina (β 2m) que se expresa ampliamente con expresión predominante en células parenquimatosas, endoteliales y hematopoyéticas. FcRn se localiza predominantemente intracelularmente dentro de redes vesiculares, particularmente endosomas.

FcRn tiene dos ligandos conocidos, la IgG y la albúmina, que conjuntamente representan casi el 70 % del total de proteínas séricas. La IgG y la albúmina se unen a FcRn en sitios distintos. Los anticuerpos inmunoglobulina gamma (IgG) son fundamentales para la respuesta inmunitaria. La IgG tiene una vida media sérica prolongada debido a su interacción con FcRn, que la protege de la degradación intracelular mediante un mecanismo de reciclaje celular. FcRn se une a la IgG sometida a endocitosis y protege a la IgG del transporte a lisosomas degradativos reciclándola al devolverla al compartimento extracelular. Este mecanismo de reciclaje depende estrictamente del pH y la unión a FcRn se ve favorecida a un pH bajo (p. ej., pH endosómico ácido, que normalmente es inferior a 6.5) después de la acidificación del compartimento endosómico. Cuando la IgG se une a FcRn, escapa a la degradación en el lisosoma. Al regresar a la superficie celular, a un pH fisiológico extracelular (que normalmente es aproximadamente pH 7.4), la unión se debilita, produciéndose la liberación de IgG al torrente sanguíneo.

La modulación de la interacción FcRn/IgG puede ser beneficiosa en terapia. Se ha descubierto que el reciclaje de IgG mediado por FcRn es el proceso dominante para mantener las concentraciones plasmáticas de IgG en seres humanos (Xiao, J Biomed Biotechnol. (2012) 2012:282989). Por ejemplo, se están utilizando antagonistas de FcRn, que bloquean la unión de IgG a FcRn, para aumentar la eliminación de la IgG de la circulación. Esto puede ser deseable en enfermedades en las que los anticuerpos IgG desempeñan un papel clave en la patología, tales como enfermedades autoinmunitarias en las que los anticuerpos autorreactivos circulantes causan la patología, enfermedades inflamatorias y enfermedades en las que la patología se caracteriza por la sobreexpresión de anticuerpos IgG. Se puede lograr una mayor

eliminación de un anticuerpo no deseado utilizando un antagonista de FcRn, tal como un anticuerpo con una Fc modificada por ingeniería genética, que se une a FcRn con alta afinidad y no se disocia rápidamente a un pH casi neutro. Estos anticuerpos modificados por ingeniería genética se denominan Abdegs, que significa anticuerpos que mejoran la degradación de la IgG (Swiercz *et al*, J Nucl Med. (2014) 55(7): 1204-7). Dichos antagonistas de FcRn no se liberarían de las células, sino que sería previsible que permanecieran unidos a FcRn y bloquearan la unión de otras IgG de menor afinidad. Como resultado, la función de FcRn se bloquearía y las IgG endógenas o no deseadas se dirigirían a la vía lisosomal para su degradación.

Se han descrito ejemplos de anticuerpos contra FcRn humano que bloquean o reducen la unión de la IgG a FcRn, por ejemplo, en el documento WO 2014/019727. El documento WO 2019/118791 se refiere a anticuerpos que se unen a FcRn con alta afinidad. El documento WO 2015/167293 se refiere a anticuerpos que inhiben competitivamente la unión de IgG a FcRn.

También se han descrito fragmentos Fc modificados por ingeniería genética que compiten con la IgG e inhiben la unión; véanse, por ejemplo, los documentos WO 2019/110823, WO 2015/100299 y WO 2021/016571. Se ha demostrado que estos fragmentos Fc aumentan la tasa de eliminación de IgG sérica en el sujeto tratado. Estas moléculas tienen mayor afinidad y menor dependencia del pH en comparación con la IgG y, por lo tanto, bloquean FcRn. Como resultado, la IgG endógena o no deseada se dirige a la vía lisosomal para su degradación.

Sin embargo, se cree que la duración de la eficacia de los antagonistas de FcRn conocidos se reduce porque la afinidad por FcRn es baja, lo que resulta en un bloqueo incompleto y/o pobre, o - si la afinidad es lo suficientemente alta como para bloquear FcRn lo suficiente - la vida media del antagonista de FcRn se reduce automáticamente como consecuencia directa del bloqueo extenso del mecanismo de reciclaje modulado por FcRn.

Por ejemplo, los antagonistas de FcRn que se unen de forma independiente del pH, tales como algunos anticuerpos anti-FcRn, bloquean eficazmente el FcRn a pH neutro al garantizar que el FcRn ya esté ocupado en la superficie celular y permanezca unido en el endosoma (es decir, al pH endosómico ácido). Por ejemplo, Nipocalimab se une con afinidad picomolar a FcRn a pH endosómico ácido y fisiológico extracelular, ocupando FcRn a lo largo de la ruta de reciclaje, véase, p. ej., Wolfe *et al.*, "IgG regulation through FcRn blocking: A novel mechanism for the treatment of myasthenia gravis", Journal of the Neurological Sciences, 2021, 430:118074. Sin embargo, debido a esta estrecha unión, es más probable que estos antagonistas de FcRn se dirijan a la vía de degradación y, por lo tanto, muestren vidas medias en circulación muy bajas.

Los antagonistas de FcRn que se unen de forma dependiente del pH (es decir, con una menor afinidad al pH fisiológico extracelular), tales como algunos fragmentos Fc modificados por ingeniería genética, por ejemplo, Efgartigimod, conducen a un bloqueo menos eficaz pero se degradan en menor medida. Por ejemplo, la unión dependiente del pH que muestra Efgartigimod le permite disociarse de FcRn durante el proceso de reciclaje, lo que lleva a una vida media en suero de 4.89 días cuando se dosifica a 10 mg/kg (Howard *et al.*, "Randomized phase 2 study of FcRn antagonist efgartigimod in generalized

myasthenia gravis", *Neurology*, 2019, 92:e2661-e2673). Esta es una vida media relativamente larga en comparación con la de los anticuerpos monoclonales de longitud completa dirigidos a FcRn, que tienen vida medias ≤ 1 día, pero sería deseable una vida media mayor sin comprometer el bloqueo de FcRn (p. ej., Blumberg *et al.*, "Blocking FcRn in humans reduces circulating IgG levels and inhibits IgG immune complex-mediated immune responses", *Sci. Adv.* 2019, 5). Véase, p. ej., Wolfe *et al.*, "IgG regulation through FcRn blocking: A novel mechanism for the treatment of myasthenia gravis", *Journal of the Neurological Sciences*, 2021, 430:118074.

Por lo tanto, es deseable identificar un "punto óptimo", donde haya suficiente bloqueo de FcRn para obtener un efecto antagonista (es decir, suficiente unión a pH fisiológico extracelular) pero, al mismo tiempo, la unión a pH fisiológico extracelular no sea demasiado estrecha, de modo que se garantice una vida media suficiente del antagonista. Además, debería haber un punto óptimo en la afinidad a pH fisiológico extracelular, para equilibrar la eliminación rápida y lograr un antagonismo de FcRn suficientemente prolongado.

Como se ha descrito anteriormente, los antagonistas de FcRn conocidos tienen vida medias reducidas y/o bloquean FcRn de manera insuficiente. Esto conduce a regímenes de dosificación subóptimos para los pacientes (es decir, tratamiento en dosis altas y/o administración con alta frecuencia).

Por lo tanto, existe la necesidad de nuevos antagonistas de FcRn, p. ej., con propiedades de unión a FcRn mejoradas y/o vida medias más largas en la circulación, que puedan administrarse en dosis más bajas y/o con menor frecuencia.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención resuelve el problema anterior y proporciona antagonistas del receptor de Fc neonatal (FcRn, también denominado FcRP, FcRB o receptor Brambell) que comprenden (a) al menos un primer polipéptido que se une a un epítipo específico en FcRn y (b) un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

Los al menos dos polipéptidos de unión a FcRn ((a) y (b)) comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención muestran un efecto sinérgico o cooperativo, que permite una unión mejorada y/o una vida media mejorada (o al menos no empeorada) de los antagonistas de FcRn.

En algunas realizaciones, la presencia del primer polipéptido (a) y el segundo polipéptido (b) en los antagonistas de FcRn de la presente invención proporciona una mayor avidez de los antagonistas de FcRn por FcRn.

En algunas realizaciones, el primer polipéptido compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Por lo tanto, en esta realización, tanto el primer como el segundo polipéptido comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. En determinadas realizaciones, el primer polipéptido (a) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD).

En una realización preferida, el primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn y, preferiblemente, comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD).

5 En algunas realizaciones, el segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un anticuerpo o un fragmento del mismo, preferiblemente un dominio Fc o un fragmento del mismo.

En una realización preferida, el primer polipéptido (a) es un ISVD que se une específicamente a un epítipo en FcRn, comprendiendo dicho epítipo al menos uno de los siguientes residuos de aminoácidos 1A, 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 10 177K, 204Y, 205P, 206P, 207E, 208L, 209Q, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y/o 262P, estando numerados los residuos de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización preferida, el primer polipéptido (a) es un ISVD que se une específicamente a un epítipo en FcRn, comprendiendo dicho epítipo al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- 15 i) 4H y 5L, y/o
 ii) 98L, 99G, 100P, 101D y 102N, y/o
 iii) 167L, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
 iv) 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A y 262P,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1,

20 preferiblemente, comprendiendo dicho epítipo al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- i) 2E, 3S, 4H y 5L, y/o
 ii) 97E, 98L, 99G, 100P, 101D y 102N, y/o
 iii) 98L, 99G, 100P, 101D, 102N y 103T, y/o
 25 iv) 167L, 168E, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
 v) 205P, 206P y 207E, y/o
 vi) 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y 262P,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1,

o al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- 30 i) 1A, 2E, 3S, 4H y 5L, y/o
 ii) 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
 iii) 204Y, 205P, 206P y 230E, y/o
 iv) 205P, 206P, 207E y 208L,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

35 En otras realizaciones preferidas, el primer polipéptido (a) es un ISVD que se une específicamente a un epítipo en FcRn, comprendiendo dicho epítipo al menos los siguientes residuos de aminoácidos 4H, 5L, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 167L, 171R, 174L, 175E, 177K, 207E, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

o al menos los siguientes residuos de aminoácidos 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 205P, 206P, 207E, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q, y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

o al menos los siguientes residuos de aminoácidos 1A, 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 204Y, 205P, 206P, 207E, 208L, 209Q, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q, y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

Por ejemplo, en una realización preferida, el primer polipéptido (a) es un ISVD que se une específicamente a un epítipo en FcRn, en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 185.

Por ejemplo, en una realización preferida, el primer polipéptido (a) es un ISVD que se une específicamente a un epítipo en FcRn, en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 14 (T0263018B11-precursor,

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTWYSYWGQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 15

(T0263018B11-W100cS, EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 185 (T0263018B11(E1D,W100cS),

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYWGQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 186 (T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS)),EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAP

GKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYW GQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 187 (T0263018B11(D1E, Y79S,T100bE,W100cS),

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYWGQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 131 (T0263091D07,

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFDYMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAADYLSVPDPSYEWYWGQGTLVTVSS) o SEQ ID NO: 144

(T0263204B12, EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVLCISSSGDSTYYADSVKGRFTI SRDNAKNTVYLQMDSLNPEDTAVYYCAVDPPSYWTGTGCLYGYRYWGQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 158

(DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEVVSYISSDGGGETSYADSVKGR FTISRDNAKNMLYLQMSSLKLEDALYYCAKGGVRGQGTLVTVSS), o SEQ ID NO: 168 (EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEVVSYISSDGGGETSYADSVKGR FTISRDNAKNMLYLQMSSLKLEDALYYCAKGGVRGQGTLVTVSS).

Por ejemplo, en otra realización preferida, el primer polipéptido (a) es un ISVD que se une específicamente a un epítipo en FcRn, en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 186 o SEQ ID NO: 187.

En otras realizaciones preferidas, el segundo polipéptido (b) comprende o consiste en un dominio Fc o fragmento del mismo que comprende al menos uno, preferiblemente todos, de los siguientes aminoácidos en las siguientes posiciones:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
- b) una treonina (T) en la posición del aminoácido 254,
- c) un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- d) una lisina (K) en la posición del aminoácido 433,
- e) una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434, y/o
- f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 436;

según la numeración Eu.

En otras realizaciones preferidas, el segundo polipéptido (b) comprende o consiste en un dominio Fc o fragmento del mismo que comprende una combinación de los siguientes cuatro residuos de aminoácido:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
- b) un ácido aspártico (D) o un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- c) un triptófano (W) o una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307, y
- d) una fenilalanina (F) o una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;

según la numeración Eu.

En otras realizaciones preferidas, el segundo polipéptido (b) comprende o consiste en un dominio Fc o fragmento del mismo que comprende una combinación de los siguientes cuatro residuos de aminoácido: una tirosina (Y) en la posición de aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición de aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición de aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición de aminoácido 434, de acuerdo con la numeración Eu.

En otras realizaciones, la invención se refiere a una proteína de fusión que comprende los antagonistas de FcRn de la presente invención y al menos una fracción adicional, tal como un ISVD. En algunas realizaciones, el ISVD adicional es un ISVD que se une específicamente a la albúmina sérica (humana) y/o un ISVD que se une específicamente a una diana terapéutica. Por ejemplo, el al menos un ISVD adicional comprendido en la proteína de fusión de la presente invención consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en donde:

CDR1 es SFGMS (SEQ ID NO: 16),

CDR2 es SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO: 17) y

CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 18),

en donde las secuencias CDR se determinan según Kabat; y/o

en donde

CDR1 es GFTFRSFGMS (SEQ ID NO: 19),

CDR2 es SISGSGSDDL (SEQ ID NO: 20) y

CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 21),

en donde las secuencias CDR se determinan de acuerdo con la numeración AbM.

5 Además se proporciona una molécula de ácido nucleico que codifica los antagonistas de FcRn y/o la proteína de fusión de la presente invención, vectores que comprenden la molécula de ácido nucleico de la presente invención, células hospedadoras que comprenden los antagonistas de FcRn y/o la proteína de fusión de la invención, o la molécula de ácido nucleico o vector que codifica los antagonistas de FcRn y/o la proteína de fusión de la invención.

10 La presente invención proporciona además métodos para producir los antagonistas de FcRn y/o la proteína de fusión de la presente invención.

Lo anterior y otras características y ventajas de la presente invención se comprenderán más completamente a partir de la siguiente descripción detallada de realizaciones ilustrativas tomadas en conjunto con los dibujos adjuntos.

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

Figura 1. Dibujo esquemático del formato estructural de los antagonistas de FcRn TP067, TP069 según realizaciones específicas de la invención. El antagonista de FcRn de control TP061 (que comprende SEQ ID NO: 23 o 24) comprende un dominio Fc YTE-KF de Fc de IgG1. TP067 (que comprende SEQ ID NOs: 126 y 127) y TP069 (que comprende SEQ ID NOs: 124 y 125) son antagonistas de FcRn según la invención, que comprenden el mismo dominio Fc YTE-KF de Fc de IgG1 que TP061 unido a una VHH de Nanobody® (ISVD) que se une específicamente a FcRn (forma de elipse sombreada en gris, VHH de FcRn en la figura, SEQ ID NO: 15). El dominio Fc y las secuencias de VHH de Nanobody® en estas construcciones polipeptídicas se fusionaron al extremo N y/o C de una de las cadenas Fc, mediante una bisagra de IgG1 (DKTHT, SEQ ID NO: 66) y/o un enlazador GS (enlazador 35GS, SEQ ID NO: 39), respectivamente (TP067, TP069), como se describe en la presente solicitud. En el dominio Fc YTE-KF de Fc de IgG1 de los antagonistas de FcRn, los dos dominios CH3 comprendidos en el mismo comprenden mutaciones de protuberancia en cavidad. Estas mutaciones sirven para modificar por ingeniería genética una interfaz entre un primer y un segundo polipéptido (dominio CH3) para heterooligomerización usando la tecnología de "protuberancias y cavidades" como se describe, por ejemplo, en los documentos US 8216805, WO 1996/27011, Ridgway, JB. *et al.*, "'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization", Protein engineering, 1996, 9, 7:617-21 o en Merchant *et al.*, "An efficient route to human bispecific IgG", Nature Biotechnology, 1998, 16: 677-681. Los aminoácidos HY en el dominio CH3 del dominio Fc se mutaron en Rf, tales como las mutaciones H435R e Y436F en el dominio CH3, tal como se describe por Jendeborg, L. *et al.* ("Engineering of FC1 and FC3 from human immunoglobulin G to analyse subclass specificity for staphylococcal protein A", J. Immunological Meth., 1997, 201:25-34).

Figura 2. (A) Perfiles de concentración sérica media (+/- SD, n=3)-tiempo de la eliminación de hIgG después de la administración de antagonistas de FcRn TP067 o TP069, en comparación con un

antagonista de FcRn de control (TP061) a través de análisis cuantitativo LC-MS/MS. Para imitar la competencia relevante con hIgG, se precargó a ratones Tg32 por vía intravenosa con 500 mg/kg de Privigen® (flecha) seguido de la administración de PBS (grupo de placebo) o antagonistas de FcRn TP061, TP067 o TP069, este último marcado como tiempo cero en el gráfico. Se recogieron muestras de sangre en los momentos indicados. **(B)** Eliminación de IgG representada como porcentaje de la concentración de hIgG, con los datos de (A).

Figura 3. Perfiles de concentración sérica media ($\pm$ SD, n=3)-tiempo de los antagonistas de FcRn TP067 o TP069, en comparación con un antagonista de FcRn de control (TP061) a través de análisis cuantitativo LC-MS/MS. Para imitar la competencia relevante con hIgG, se precargó a ratones Tg32 por vía intravenosa con 500 mg/kg de Privigen® (flecha), seguido de la administración de antagonistas de FcRn TP061, TP067 o TP069. Se recogieron muestras de sangre en los momentos indicados.

Figura 4. Dibujo esquemático del formato estructural de los antagonistas de FcRn TPP-122907, TPP-122908, TPP-122909, TPP-122903, TPP-122904, TPP-122905, TPP-122912, TPP-122910, TPP-122946 y TPP-122947 según realizaciones específicas de la invención. También están representados el control TPP-122902 y el anticuerpo de referencia TPP-122914.

Figura 5. Perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo compilados para todas las construcciones basándose en un dominio Fc antagonista.

Figura 6. Perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo de TPP-122905 y TPP-122907 frente a placebo, TPP-122902 y TPP-122914.

Figura 7. Perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo de TPP-122910 y TPP-122907 frente a placebo y TPP-122902.

Figura 8. Perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo de construcciones simétricas TPP-122903 y TPP-122904 frente a placebo, TPP-122902 y TPP-122907.

Figura 9. Perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo de TPP-122908, TPP-122909 y TPP-122912 frente a placebo y TPP-122902.

Figura 10. Perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo de TPP-122946 y TPP-122947 frente a placebo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

A menos que se indique o defina lo contrario, todos los términos utilizados tienen su significado habitual en la técnica, que resultará claro para el experto. Se hace referencia, por ejemplo, a los manuales estándar, tales como Sambrook *et al.*, 1989 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2ª Ed., Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press), Ausubel *et al.*, 1987 (Current protocols in molecular biology, Green Publishing and Wiley Interscience, Nueva York), Lewin 1985 (Genes II, John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y.), Old *et al.*, 1981 (Principles of Gene Manipulation: An Introduction to Genetic Engineering, 2ª Ed., University of California Press, Berkeley, CA), Roitt *et al.*, 2001 (Immunology, 6ª Ed., Mosby/Elsevier, Edinburgh), Roitt *et al.*, 2001 (Roitt's Essential Immunology, 10ª Ed., Blackwell Publishing, UK), and

Janeway *et al.*, 2005 (Immunobiology, 6ª Ed., Garland Science Publishing/Churchill Livingstone, Nueva York), así como a los antecedentes generales de la técnica citados en el presente documento.

A menos que se indique lo contrario, todos los métodos, etapas, técnicas y manipulaciones que no se describen específicamente en detalle en el presente documento pueden realizarse y se han realizado de una manera por sí misma conocida, como quedará claro para el experto. Se hace referencia de nuevo, por ejemplo, a los manuales estándar y a los antecedentes generales de la técnica mencionados en el presente documento y a las referencias adicionales mencionadas en los mismos; así como, por ejemplo, a las siguientes revisiones: Presta 2006 (Adv. Drug Deliv. Rev., 58: 640), Levin and Weiss 2006 (Mol. Biosyst., 2: 49), Irving *et al.*, 2001 (J. Immunol. Methods, 248: 31), Schmitz *et al.*, 2000 (Placenta 21 Suppl. A: S106), Gonzales *et al.*, 2005 (Tumour Biol., 26: 31), que describen técnicas para modificar por ingeniería genética proteínas, tales como maduración de la afinidad y otras técnicas para mejorar la especificidad y otras propiedades deseadas de proteínas tales como inmunoglobulinas.

Cabe señalar que, tal como se utilizan en el presente documento, las formas singulares "**un**", "**una**", y "**ella**", incluyen los referentes en plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a "un reactivo" incluye uno o más de dichos reactivos diferentes y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica que podrían modificarse o sustituirse por los métodos descritos en el presente documento.

A menos que se indique lo contrario, debe entenderse que la expresión "**al menos**" que precede a una serie de elementos se refiere a cada elemento de la serie. Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar utilizando tan solo experimentación habitual, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en el presente documento. Se pretende que dichos equivalentes queden abarcados por la presente invención.

El término "**y/o**" dondequiera que se utilice en el presente documento incluye el significado de "y", "o" y "todos o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término".

A lo largo de esta memoria descriptiva y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra "**comprender**", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas determinados, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas. Cuando se usa en el presente documento, la expresión "que comprende" puede sustituirse por la expresión "que contiene" o "que incluye" o, algunas veces, cuando se usa en el presente documento, por la expresión "que tiene".

"**Similar**", como se utiliza en el presente documento, es intercambiable por igual, análogo, comparable, correspondiente y similares, y se entiende que tiene características iguales o comunes, y/o muestra resultados comparables de manera cuantificable, es decir, con una variación máxima del 20 %, 10 %, más preferiblemente 5 % o, incluso más preferiblemente, 1 % o menos.

Debe entenderse que, en general, el término "**secuencia**", como se utiliza en el presente documento (por ejemplo, en términos como "secuencia de inmunoglobulina", "secuencia de anticuerpo", "secuencia de dominio variable", "secuencia de V_{HH}" o "secuencia de proteína"), incluye tanto la secuencia

de aminoácidos pertinente como los ácidos nucleicos o las secuencias de nucleótidos que la codifican, a menos que el contexto requiera una interpretación más limitada. Se interpreta que las secuencias de aminoácidos significan un solo aminoácido o una secuencia no ramificada de dos o más aminoácidos, según el contexto. Se interpreta que las secuencias de nucleótidos significan una secuencia no ramificada de 3 o más nucleótidos.

Cuando se dice que una secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos "**comprende**" otra secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos, respectivamente, o que "**consiste esencialmente en**" otra secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos, puede significar que esta última secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos se ha incorporado a la primera secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos mencionada, respectivamente, pero, por lo general, esto significa que la primera secuencia de nucleótidos o de aminoácidos mencionada comprende dentro de su secuencia un tramo de nucleótidos o de residuos de aminoácidos, respectivamente, que tiene la misma secuencia de nucleótidos o de aminoácidos, respectivamente, que esta última secuencia, independientemente de cómo se haya generado u obtenido realmente la primera secuencia mencionada (que puede ser, por ejemplo, mediante cualquier método adecuado descrito en el presente documento). A modo de ejemplo no limitativo, cuando se dice que un ISVD comprende una secuencia CDR, esto puede significar que dicha secuencia CDR se ha incorporado al ISVD, pero más habitualmente esto generalmente significa que el ISVD contiene dentro de su secuencia un tramo de residuos de aminoácidos con la misma secuencia de aminoácidos que dicha secuencia CDR, independientemente de cómo se haya generado u obtenido dicho ISVD. También cabe señalar que cuando la última secuencia de aminoácidos tiene una función biológica o estructural específica, preferiblemente tiene esencialmente la misma función biológica o estructural similar o equivalente en la secuencia de aminoácidos mencionada en la primera (en otras palabras, la primera secuencia de aminoácidos mencionada es preferiblemente tal que la última secuencia es capaz de realizar esencialmente la misma función biológica o estructural similar o equivalente). Por ejemplo, cuando se dice que un ISVD comprende una secuencia CDR o una secuencia marco, respectivamente, la secuencia CDR y el marco son preferiblemente capaces, en dicho ISVD, de funcionar como una secuencia CDR o una secuencia marco, respectivamente. Asimismo, cuando se dice que una secuencia de nucleótidos comprende otra secuencia de nucleótidos, la primera secuencia de nucleótidos mencionada es preferiblemente tal que, cuando se expresa en un producto de expresión (p. ej., un polipéptido), la secuencia de aminoácidos codificada por la última secuencia de nucleótidos forma parte de dicho producto de expresión (en otras palabras, que la última secuencia de nucleótidos está en el mismo marco de lectura que la secuencia de nucleótidos mayor mencionada en primer lugar).

Aminoácidos son compuestos orgánicos que contienen grupos funcionales amino[a] ($-\text{NH}_3^+$) y carboxilato ($-\text{CO}_2^-$), junto con una cadena lateral (grupo R) específica de cada aminoácido. Los residuos de aminoácidos se indicarán indistintamente en el presente documento de acuerdo con el código estándar de aminoácidos de tres letras o de una letra, como se menciona en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1: Aminoácidos comunes

Código de 1 letra	Código de 3 letra	Nombre del aminoácido
A	Ala	Alanina
C	Cys	Cisteína
D	Asp	Ácido aspártico
E	Glu	Ácido glutámico
F	Phe	Fenilalanina
G	Gly	Glicina
H	His	Histidina
I	Ile	Isoleucina
K	Lys	Lisina
L	Leu	Leucina
M	Met	Metionina
N	Asn	Asparagina
P	Pro	Prolina
Q	Gln	Glutamina
R	Arg	Arginina
S	Ser	Serina
T	Thr	Treonina
V	Val	Valina
W	Trp	Triptófano
X	Xaa	No especificado
Y	Tyr	Tirosina

Quando un residuo de aminoácido se indica como "X" o "Xaa", significa que el residuo de aminoácido no está especificado, a menos que el contexto requiera una interpretación más limitada. Por ejemplo, si la descripción proporciona una secuencia de aminoácidos de una CDR en donde uno (o más) de los residuos de aminoácidos está o están indicados con "X", la descripción puede especificar además qué residuo(s) de aminoácidos está o están (puede o pueden estar) presente(s) en esa posición específica de la CDR.

Los aminoácidos son los aminoácidos que se encuentran comúnmente en las proteínas naturales y se enumeran en la Tabla 1. Cualquier secuencia de aminoácidos que contenga aminoácidos modificados postraduccionalmente puede describirse como la secuencia de aminoácidos que se traduce inicialmente utilizando los símbolos mostrados en la Tabla 1 con las posiciones modificadas, p. ej., hidroxilaciones o glicosilaciones, pero estas modificaciones no se mostrarán explícitamente en la secuencia de aminoácidos. Esta definición abarca cualquier péptido o proteína que pueda expresarse como enlaces modificados de secuencia, entrecruzamientos y protecciones terminales, enlaces no peptídico, etc. Los términos **"proteína"**, **"péptido"**, **"proteína/péptido"** y **"polipéptido"** se utilizan indistintamente a lo largo de la divulgación y todos ellos tienen el mismo significado para los propósitos de esta divulgación. Cada término

se refiere a un compuesto orgánico formado por una cadena lineal de dos o más aminoácidos. El compuesto puede tener diez o más aminoácidos; veinticinco o más aminoácidos; cincuenta o más aminoácidos; cien o más aminoácidos, doscientos o más aminoácidos e incluso trescientos o más aminoácidos. El experto en la técnica apreciará que los polipéptidos generalmente comprenden menos aminoácidos que las proteínas, aunque no existe un punto de corte reconocido en la técnica para el número de aminoácidos que distingue un polipéptido de una proteína; esos polipéptidos pueden prepararse mediante síntesis química o métodos recombinantes; y esas proteínas generalmente se fabrican *in vitro* o *in vivo* mediante métodos recombinantes conocidos en la técnica.

Por convención, el enlace amida en la estructura primaria de los polipéptidos está en el orden en que están escritos los aminoácidos, estando el extremo amino (N-terminal) de un polipéptido siempre a la izquierda, mientras que el extremo ácido (C-terminal) está a la derecha.

Cualquier secuencia de aminoácidos que contenga aminoácidos modificados postraduccionalmente puede describirse como la secuencia de aminoácidos que se traduce inicialmente utilizando los símbolos mostrados en la Tabla 1 con las posiciones modificadas; por ejemplo, hidroxilaciones o glicosilaciones, pero estas modificaciones no se mostrarán explícitamente en la secuencia de aminoácidos. Esta definición abarca cualquier péptido o proteína que pueda expresarse como enlaces modificados de secuencia, entrecruzamientos y protecciones terminales, enlaces no peptídico, etc.

El término "**dominio**", como se utiliza en el presente documento, generalmente se refiere a una región globular de una cadena de anticuerpo y, en particular, a una región globular de un anticuerpo de cadena pesada, o a un polipéptido que consiste esencialmente en dicha región globular. Normalmente, dicho dominio comprenderá bucles peptídicos (por ejemplo, 3 o 4 bucles peptídicos) estabilizados, por ejemplo, como una lámina o mediante enlaces disulfuro.

El término "**aproximadamente**" utilizado en el contexto de los parámetros o intervalos de parámetros proporcionados en el presente documento tendrá los siguientes significados. A menos que se indique lo contrario, cuando el término "aproximadamente" se aplica a un valor particular o a un intervalo, el valor o intervalo se considera tan preciso como el método utilizado para medirlo. Si no se especifican márgenes de error en la solicitud, el último decimal de un valor numérico indica su grado de precisión. Cuando no se indiquen márgenes de error específicos, el margen máximo se determina aplicando la convención de redondeo al último decimal, por ejemplo, para un valor de pH de aproximadamente 2.7, el margen de error es de 2.65 a 2.74. En la presente solicitud, también se contempla que cualquier parámetro indicado con el término "aproximadamente" se divulga sin el término "aproximadamente". En otras palabras, las realizaciones que hacen referencia a un valor de parámetro utilizando el término "aproximadamente" también describirán una realización dirigida al valor numérico de dicho parámetro tal cual. Por ejemplo una realización que especifica un pH de "aproximadamente pH 2.7" también divulgará una realización que especifica un pH de "pH 2.7" tal cual; una realización que especifica un intervalo de pH de "entre aproximadamente pH 2.7 y aproximadamente pH 2.1" también describirá una realización que especifica un intervalo de pH de "entre pH 2.7 y pH 2.1", etc.

Para comparar dos o más secuencias de nucleótidos, el porcentaje de "**identidad de secuencia**" entre una primera secuencia de nucleótidos y una segunda secuencia de nucleótidos puede calcularse dividiendo [el número de nucleótidos de la primera secuencia de nucleótidos que son idénticos a los nucleótidos en las posiciones correspondientes de la segunda secuencia de nucleótidos] por [el número total de nucleótidos de la primera secuencia de nucleótidos] y multiplicando por [100 %], en la que cada supresión, inserción, sustitución o adición de un nucleótido en la segunda secuencia de nucleótidos, en comparación con la primera secuencia de nucleótidos, se considera una diferencia en un único nucleótido (posición). Como alternativa, el grado de identidad de secuencia entre dos o más secuencias de nucleótidos se puede calcular usando un algoritmo informático conocido para la alineación de secuencias, tal como NCBI Blast v2.0, usando configuraciones estándar. Algunas otras técnicas, algoritmos informáticos y configuraciones para determinar el grado de identidad de secuencia se describen, por ejemplo, en los documentos WO 04/037999, EP 0967284, EP 1085089, WO 00/55318, WO 00/78972, WO 98/49185 y GB 2357768. Normalmente, para determinar el porcentaje de "identidad de secuencia" entre dos secuencias de nucleótidos de acuerdo con el método de cálculo descrito anteriormente, la secuencia de nucleótidos con el mayor número de nucleótidos se tomará como la "primera" secuencia de nucleótidos, y la otra secuencia de nucleótidos se tomará como la "segunda" secuencia de nucleótidos.

Para comparar dos o más secuencias de aminoácidos, el porcentaje de "**identidad de secuencia**" entre una primera secuencia de aminoácidos y una segunda secuencia de aminoácidos (también denominada en el presente documento "identidad de aminoácidos") puede calcularse dividiendo [el número de residuos de aminoácidos de la primera secuencia de aminoácidos que son idénticos a los residuos de aminoácidos en las posiciones correspondientes de la segunda secuencia de aminoácidos] por [el número total de residuos de aminoácidos de la primera secuencia de aminoácidos] y multiplicando por [100 %], en la que cada supresión, inserción, sustitución o adición de un residuo de aminoácido en la segunda secuencia de aminoácidos, en comparación con la primera secuencia de aminoácidos, se considera una diferencia en un único residuo de aminoácido (posición), es decir, como una "diferencia de aminoácido" como se define en el presente documento. Como alternativa, el grado de identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se puede calcular usando un algoritmo informático conocido, tal como los mencionados anteriormente para determinar el grado de identidad de secuencia para secuencias de nucleótidos, nuevamente usando configuraciones estándar. Normalmente, para determinar el porcentaje de "identidad de secuencia" entre dos secuencias de aminoácidos de acuerdo con el método de cálculo descrito anteriormente, la secuencia de aminoácidos con el mayor número de residuos de aminoácidos se tomará como la "primera" secuencia de aminoácidos, y la otra secuencia de aminoácidos se tomará como la "segunda" secuencia de aminoácidos.

Además, al determinar el grado de identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos, el experto puede tener en cuenta las denominadas sustituciones de aminoácidos "conservadoras", que generalmente pueden describirse como sustituciones de aminoácidos en las que un residuo de aminoácido se reemplaza con otro residuo de aminoácido de estructura química similar, y que tiene poca o esencialmente ninguna influencia sobre la estructura 3D, función, actividad u otras propiedades biológicas

del polipéptido. Dichas sustituciones de aminoácidos conservadoras son bien conocidas en la técnica, por ejemplo por los documentos WO 04/037999, GB 335768, WO 98/49185, WO 00/46383 y WO 01/09300; y los tipos y/o combinaciones (preferidos) de dichas sustituciones se pueden seleccionar basándose en las enseñanzas pertinentes del documento WO 04/037999 así como del documento WO 98/49185 y de las referencias adicionales citadas en el mismo.

Dichas sustituciones conservadoras preferiblemente son sustituciones en las que un aminoácido dentro de los siguientes grupos (a) – (e) se sustituye por otro residuo de aminoácido dentro del mismo grupo: (a) pequeños residuos alifáticos, no polares o ligeramente polares: Ala, Ser, Thr, Pro y Gly; (b) residuos polares con carga negativa y sus amidas (sin carga): Asp, Asn, Glu y Gln; (c) residuos polares, cargados positivamente: His, Arg y Lys; (d) grandes residuos alifáticos, no polares: Met, Leu, Ile, Val y Cys; y (e) residuos aromáticos: Phe, Tyr y Trp. Las sustituciones conservadoras particularmente preferidas son las siguientes: Ala por Gly o por Ser; Arg por Lys; Asn por Gln o por His; Asp por Glu; Cys por Ser; Gln por Asn; Glu por Asp; Gly por Ala o por Pro; His por Asn o por Gln; Ile por Leu o por Val; Leu por Ile o por Val; Lys por Arg, por Gln o por Glu; Met por Leu, por Tyr o por Ile; Phe por Met, por Leu o por Tyr; Ser por Thr; Thr por Ser; Trp por Tyr; Tyr por Trp; y/o Phe por Val, por Ile o por Leu.

Cuando se comparan dos dominios variables únicos de inmunoglobulina, la expresión "diferencia de aminoácidos" se refiere a una inserción, eliminación o sustitución de un único residuo de aminoácido en una posición de la primera secuencia, en comparación con la segunda secuencia; entendiéndose que dos dominios variables únicos de inmunoglobulina pueden contener una, dos o más de tales diferencias de aminoácidos.

Para comparar dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina u otras secuencias de aminoácidos tales como, por ejemplo, los polipéptidos de la invención, etc., el porcentaje de "identidad de secuencia" entre una primera secuencia de aminoácidos y una segunda secuencia de aminoácidos (también denominada en el presente documento "identidad de aminoácidos") puede calcularse o determinarse como se describe en el párrafo f) en las páginas 49 y 50 del documento WO 08/020079 (incorporado en el presente documento por referencia), tal como dividiendo [el número de residuos de aminoácidos en la primera secuencia de aminoácidos que son idénticos a los residuos de aminoácidos en las posiciones correspondientes en la segunda secuencia de aminoácidos] por [el número total de residuos de aminoácidos en la primera secuencia de aminoácidos] y multiplicando por [100%], en donde cada eliminación, inserción, sustitución o adición de un residuo de aminoácido en la segunda secuencia de aminoácidos, en comparación con la primera secuencia de aminoácidos, se considera una diferencia en un único residuo de aminoácido (posición), es decir, como una "diferencia de aminoácido" como se define en el presente documento; como alternativa, el grado de identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos se puede calcular usando un algoritmo informático conocido para el alineamiento de secuencias, tal como NCBI Blast v2.0, usando configuraciones estándar. Algunas otras técnicas, algoritmos informáticos y configuraciones para determinar el grado de identidad de secuencia se describen, por ejemplo, en los documentos WO 04/037999, EP 0 967 284, EP 1 085 089, WO 00/55318, WO 00/78972, WO 98/49185 y GB 2 357 768-A.

Normalmente, para determinar el porcentaje de "identidad de secuencia" entre dos secuencias de aminoácidos de acuerdo con el método de cálculo descrito anteriormente, la secuencia de aminoácidos con el mayor número de residuos de aminoácidos se tomará como la "primera" secuencia de aminoácidos, y la otra secuencia de aminoácidos se tomará como la "segunda" secuencia de aminoácidos.

Además, al determinar el grado de identidad de secuencia entre dos dominios variables únicos de inmunoglobulina, el experto puede tener en cuenta las denominadas sustituciones de aminoácidos "conservadoras", que generalmente pueden describirse como sustituciones de aminoácidos en las que un residuo de aminoácido se reemplaza con otro residuo de aminoácido de estructura química similar, y que tiene poca o esencialmente ninguna influencia sobre la función, actividad u otras propiedades biológicas del polipéptido. Dichas sustituciones de aminoácidos conservadoras son bien conocidas en la técnica, por ejemplo por los documentos WO 04/037999, GB-A-3 357 768, WO 98/49185, WO 00/46383 y WO 01/09300; y los tipos y/o combinaciones (preferidos) de dichas sustituciones se pueden seleccionar basándose en las enseñanzas pertinentes del documento WO 04/037999, así como del documento WO 98/49185 y de las referencias adicionales citadas en el mismo. A continuación se describen ejemplos de sustituciones conservadoras en el presente documento.

Cualquier sustitución de aminoácidos aplicada a los polipéptidos descritos en el presente documento también puede basarse en el análisis de las frecuencias de variaciones de aminoácidos entre proteínas homólogas de diferentes especies desarrollado por Schulz et al. 1978 (Principles of Protein Structure, editorial Springer), sobre los análisis de potenciales de formación de estructuras desarrollados por Chou y Fasman 1975 (Biochemistry 13: 211) y 1978 (Adv. Enzymol. 47: 45-149), y en el análisis de patrones de hidrofobicidad en proteínas desarrollado por Eisenberg et al. 1984 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 140-144), Kyte y Doolittle 1981 (J Molec. Biol. 157: 105-132) y Goldman et al. 1986 (Ann. Rev. Biophys. Chem. 15: 321-353), todos incorporados en el presente documento en su totalidad por referencia. La información sobre la estructura primaria, secundaria y terciaria de los ISVD se proporciona en la descripción del presente documento y en los antecedentes generales de la técnica mencionados anteriormente. Además, para este propósito, la estructura cristalina de un dominio V_{HH} de una llama se proporciona, por ejemplo, por Desmyter et al. 1996 (Nature Structural Biology, 3: 803), Spinelli et al. 1996 (Natural Structural Biology 3: 752-757) y Decanniere et al. 1999 (Structure, 7: 361). En la técnica anterior citada anteriormente puede encontrarse más información sobre algunos de los residuos de aminoácidos que en los dominios V_H convencionales forman la interfaz V_H/V_L y las posibles sustituciones de camelización en estas posiciones.

Se dice que los dominios variables únicos de inmunoglobulina y las secuencias de ácidos nucleicos son "exactamente iguales" si tienen una identidad de secuencia del 100 % (como se define en el presente documento) en toda su longitud.

La expresión "**de tipo salvaje**" se refiere a un gen o producto génico aislado de una fuente natural. Un gen de tipo salvaje es el que se observa con mayor frecuencia en una población y, por lo tanto, se designa arbitrariamente como la forma "normal" o "de tipo salvaje" del gen. En cambio, el término "**modificado**", "**mutante**" o "**variante**" se refiere a un gen o producto génico que muestra modificaciones en la secuencia, modificaciones postraduccionales y/o propiedades funcionales (es decir, características

alteradas) en comparación con el gen o producto génico de tipo salvaje. Se observa que se pueden aislar mutantes que aparecen de forma natural; estos se identifican por el hecho de que tienen características alteradas en comparación con el gen o producto genético de tipo salvaje. Como alternativa, una variante también puede incluir moléculas sintéticas, p. ej., una variante del ligando de quimiocina puede ser similar en estructura y/o función a la quimiocina natural, pero puede referirse a una molécula pequeña, o a un péptido o proteína sintético, que está fabricado por el hombre. Dichas variantes con diferentes propiedades funcionales pueden referirse a superagonistas, superantagonistas, entre otras diferencias funcionales, como conoce el experto.

En el contexto de la presente invención, las expresiones "**especificidad**", "**que se une específicamente**" o "**unión específica**" se refieren al número de moléculas diana diferentes, tales como antígenos, a las que una unidad de unión particular puede unirse con una afinidad suficientemente alta (véase más adelante). "*Especificidad*", "*que se une específicamente*" o "*unión específica*" se utilizan indistintamente en el presente documento con "*selectividad*", "*que se une selectivamente*" o "*unión selectiva*". Generalmente, las unidades de unión, tales como los ISVD, se unen específicamente a sus dianas designadas.

La especificidad/selectividad de una unidad de unión se puede determinar en función de la afinidad. La afinidad indica la fuerza o estabilidad de una interacción molecular. La afinidad comúnmente viene dada por la K_D , o constante de disociación, que tiene unidades de mol/litro (o M). La afinidad también se puede expresar como una constante de asociación, K_A , que es igual a $1/K_D$ y tiene unidades de $(\text{mol/litro})^{-1}$ (o M^{-1}).

La **afinidad** es una medida de la fuerza de unión entre una fracción y un sitio de unión en la molécula diana: cuanto menor sea el valor de la K_D , mayor será la fuerza de unión entre una molécula diana y una fracción de direccionamiento.

El valor de la K_D caracteriza la fuerza de una interacción molecular también en un sentido termodinámico, ya que está relacionada con el cambio de energía libre (DG) de la unión mediante la conocida relación $DG=RT.\ln(K_D)$ (de manera equivalente $DG=-RT.\ln(K_A)$), en donde R es igual a la constante de los gases, T es igual a la temperatura absoluta y ln denota el logaritmo natural.

La K_D también se puede expresar como la relación de la constante de velocidad de disociación de un complejo, indicada como k_{off} , con respecto a la velocidad de su asociación, indicada como k_{on} (de manera que $K_D = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ y $K_A = k_{\text{on}}/k_{\text{off}}$). La velocidad de disociación k_{off} tiene unidades s^{-1} (donde s es la notación de unidad del SI de segundo). La velocidad de asociación k_{on} tiene unidades $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$. La velocidad de asociación puede variar entre $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ a aproximadamente $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, acercándose a la constante de velocidad de asociación limitada por difusión para interacciones bimoleculares. La velocidad de disociación está relacionada con la vida media de una interacción molecular dada mediante la relación $t_{1/2}=\ln(2)/k_{\text{off}}$. La velocidad de disociación puede variar entre 10^{-6} s^{-1} (complejo casi irreversible con un $t_{1/2}$ de varios días) a 1 s^{-1} ($t_{1/2}= 0.69 \text{ s}$).

La K_D medida puede corresponder a la K_D aparente si el proceso de medición influye de alguna manera en la afinidad de unión intrínseca de las moléculas implicadas, por ejemplo, mediante artefactos

relacionados con el recubrimiento presente en el biosensor de una molécula. Además, una K_D aparente puede medirse si una molécula contiene más de un sitio de reconocimiento para la otra molécula o moléculas. En dicha situación, la afinidad medida puede verse afectada por la avidez de la interacción de las dos moléculas.

5 La constante de disociación (K_D) puede ser la constante de disociación real o aparente, como será evidente para el experto. Los métodos para determinar la K_D serán claros para el experto y, por ejemplo, incluyen las técnicas que se mencionan a continuación. A este respecto, también quedará claro que puede no ser posible medir constantes de disociación de más de 10^{-4} mol/litro o 10^{-3} mol/litro (por ejemplo, de 10^{-2} mol/litro). Opcionalmente, como también será evidente para el experto, la K_D (real o aparente) puede
10 calcularse a partir de la constante de asociación (real o aparente) (K_A), mediante la relación ($K_D = 1/K_A$). $K_A = 1/K_D \rightarrow K_A = [AB] / [A].[B]$.

En el contexto de la presente invención, el término "**avidéz**" se refiere a la fuerza acumulada de *múltiples* afinidades de interacciones de unión no covalentes individuales, tales como entre un receptor de proteína y su ligando, y también puede denominarse "afinidad funcional". "Avidéz" difiere de "afinidad" que,
15 como se explicó en detalle anteriormente, describe la fuerza de unión de una interacción *única*.

El término "**vida media**" como se utiliza en el presente documento generalmente se puede definir como se describe en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079 y como se menciona en el mismo se refiere al tiempo necesario para que la concentración sérica del compuesto o polipéptido se reduzca en un 50 %, *in vivo*, por ejemplo debido a la degradación de la secuencia o compuesto y/o
20 eliminación o secuestro de la secuencia o compuesto por mecanismos naturales. La vida media *in vivo* del componente esencial de portador basado en proteína y/o molécula de la invención se puede determinar de cualquier manera en sí misma conocida, tal como mediante análisis farmacocinético. Las técnicas adecuadas quedarán claras para el experto en la técnica y, por ejemplo, pueden ser, en general, las descritas en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079. Como también se menciona en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079, la vida media se puede expresar usando
25 parámetros tales como $t_{1/2}$ -alfa, $t_{1/2}$ -beta y el área bajo la curva (AUC). A este respecto, cabe señalar que el término "vida media", como se utiliza en el presente documento, se refiere en particular a $t_{1/2}$ -beta o vida media terminal (en donde $t_{1/2}$ -alfa y/o AUC o ambos pueden quedar fuera de consideración). Se hace referencia, por ejemplo, a los manuales estándar, tales como Kenneth, A *et al*: Chemical Stability of
30 Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and Peters *et al*, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996). También se hace referencia a "Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, publicado por Marcel Dekker, 2ª edición revisada (1982). De manera similar, las expresiones "aumento de la vida media" o "vida media aumentada" también son como se definen en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079 y, en particular, se refieren a un aumento en $t_{1/2}$ -beta, con o sin un aumento en $t_{1/2}$ -alfa
35 y/o el AUC o ambos.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "**región bisagra**" se refiere a la porción de una molécula de cadena pesada que une el dominio CH1 al dominio CH2. Esta región bisagra consiste en aproximadamente 25 residuos y es flexible, lo que permite que los dos regiones de unión a antígeno N-

terminales se muevan de forma independiente. La región bisagra se puede dividir en tres dominios distintos: los dominios bisagra superior, medio e inferior (Roux et al. J. Immunol. 161. 4083 (1998)). Los antagonistas de FcRn en la presente divulgación pueden contener toda o parte de una región bisagra.

5 Como se utiliza en el presente documento, la expresión "**dominio CH2**" incluye la porción de una molécula de cadena pesada de inmunoglobulina que se extiende, por ejemplo, aproximadamente desde las posiciones 244-360 en el sistema de numeración Kabat (posiciones Eu 231-340). El dominio CH2 es único porque no está estrechamente asociado a otro dominio. Más bien, dos cadenas de carbohidrato ramificadas unidas a través de *N* están intercaladas entre los dos dominios CH2 de una molécula de IgG nativa intacta. En una realización, un polipéptido de unión de la presente divulgación comprende un dominio
10 CH2 derivado de una molécula de IgG1 (p. ej., una molécula de IgG1 humana).

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "**dominio CH3**" incluye la porción de una molécula de inmunoglobulina de cadena pesada que se extiende aproximadamente 110 residuos desde el extremo *N* del dominio CH2, p. ej., desde aproximadamente las posiciones 361-476 del sistema de numeración Kabat (posiciones Eu 341-447). El dominio CH3 normalmente forma la porción C-terminal del anticuerpo. Sin embargo, en algunas inmunoglobulinas, pueden extenderse dominios adicionales desde el
15 dominio CH3 para formar la porción C-terminal de la molécula (p. ej., el dominio CH4 en la cadena U de IgM y la cadena E de IgE). En una realización, un polipéptido de unión de la presente divulgación comprende un dominio CH3 derivado de una molécula de IgG1 (p. ej., una molécula de IgG1 humana).

Como se utiliza en el presente documento, la expresión "**sitio de unión**" comprende una región de
20 un polipéptido que es responsable de unirse selectivamente a un antígeno diana de interés (p. ej., AChR). Los dominios de unión comprenden al menos un sitio de unión. Los dominios de unión ilustrativos incluyen un dominio variable de anticuerpo. Las moléculas de anticuerpo pueden comprender un único sitio de unión o múltiples (p. ej., dos, tres o cuatro) sitios de unión.

Las expresiones "**región variable**" y "**dominio variable**" se utilizan indistintamente en el presente
25 documento y pretenden tener un significado equivalente. El término "variable" se refiere al hecho de que ciertas porciones de los dominios variables VH y VL difieren ampliamente en secuencia entre anticuerpos y se utilizan en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular por su antígeno diana. Sin embargo, la variabilidad no se distribuye uniformemente a lo largo de los dominios variables de los anticuerpos. Se concentra en tres segmentos denominados "bucles hipervariables" en cada uno de los dominios VL y VH
30 que forman parte del sitio de unión al antígeno.

La expresión "**posición EU**", tal como se utiliza en la presente, se refiere a la posición de aminoácido en la convención de numeración EU para la región Fc descrita en Edelman, G.M. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Usa, 63, 78-85 (1969) y Kabat *et al.*, En "Sequences of Proteins of Immunological Interest", U.S. Dept. Salud y Servicios Humanos, 5ª edición, 1991. A menos que se indique lo contrario, las posiciones de
35 los residuos de Fc a las que se hace referencia en el presente documento están de acuerdo con el sistema de numeración de Ig EU.

La expresión "**fragmento de unión a FcRn**" se refiere a una porción de una región Fc que es suficiente para conferir unión a FcRn.

En el contexto de la presente invención, "**pH ácido**" o "**pH endosómico ácido**" se refiere a un pH fisiológico ácido, tal como el pH dentro de los endosomas, que generalmente es pH <6.8 o <6.5, tal como entre 5.0 y 6.8, tal como aproximadamente 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6 o 6.7, o tal como aproximadamente pH 6.4, 6.3, 6.2, 6.1 o aproximadamente pH 6.0. Por tanto, "**pH ácido**" puede referirse a un pH de entre aproximadamente 6.0 y aproximadamente 6.5. En el contexto de la presente invención, "**pH neutro**", "**pH casi neutro**" o "**pH fisiológico extracelular**" se refiere al pH del espacio extracelular, p. ej., un pH de aproximadamente 7.0 a aproximadamente 7.5, tal como aproximadamente 7.0, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4 o 7.5, preferiblemente aproximadamente 7.4.

Los antagonistas de FcRn de la presente invención

La presente invención proporciona moléculas o polipéptidos (también denominados construcciones o antagonistas de FcRn en el contexto de la presente invención) que comprenden (a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc neonatal (FcRn) y (b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

La expresión "**antagonista de FcRn**" o "**antagonistas de FcRn**" como se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier agente que se une específicamente a FcRn y modula, interfiere, inhibe y/o bloquea la función natural de FcRn hasta cierto punto. Por ejemplo, un "antagonista de FcRn" según la presente invención se refiere a cualquier agente que se une específicamente a FcRn e inhibe la unión de inmunoglobulina a FcRn, es decir, compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden al menos dos polipéptidos ((a) y (b)), como se define anteriormente, cada uno de los cuales se une específicamente a un epítipo en FcRn. En determinadas realizaciones, el epítipo de FcRn al que se une el primer polipéptido es idéntico al epítipo de FcRn al que se une el segundo polipéptido. En ciertas otras realizaciones, el epítipo de FcRn al que se une el primer polipéptido es diferente del epítipo de FcRn al que se une el segundo polipéptido. Por lo tanto, los antagonistas de FcRn de la presente invención son específicos de un único epítipo en FcRn o de dos o más epítipos diferentes presentes en el receptor de FcRn. Además, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Por lo tanto, los antagonistas de FcRn de la presente invención también compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

La expresión "**un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn**" como se utiliza en el presente documento, se refiere a polipéptidos que se unen a FcRn de una manera que reduce o inhibe la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn, en comparación con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn en ausencia del polipéptido. Los polipéptidos que compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn pueden identificarse por el experto usando cualquier método adecuado en la técnica, por ejemplo, usando ensayos ELISA de competición o Biacore donde la unión del polipéptido a FcRn previene/reduce la cantidad de unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn. De manera similar, la expresión "**un polipéptido que no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn**" como se utiliza en el presente documento, se refiere a polipéptidos que se unen a FcRn de una manera que no afecta significativamente o no interfiere

significativamente con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn en comparación con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn en ausencia del polipéptido.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) y el segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, se unen *sinérgicamente* o *cooperativamente* a FcRn. En el contexto de la presente invención, las expresiones **"unión sinérgica"**, **"unirse sinérgicamente"**, **"unión cooperativa"** o **"unirse cooperativamente"** se refieren a una propiedad de la unión de la combinación del primer y segundo polipéptidos cuando están comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, dando como resultado dicha unión efectos mejorados en comparación con la suma de los efectos causados por la unión de cada uno de los polipéptidos por sí solos (es decir, no presentes en combinación entre sí en los antagonistas de FcRn de la presente invención). La unión sinérgica y/o simultánea del primer y segundo polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención a FcRn puede conducir a varios efectos mejorados.

Por ejemplo, la unión sinérgica del primer y segundo polipéptidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención a FcRn puede conducir a una eliminación mejorada de IgG sérica (*in vitro* o *in vivo*) (es decir, eliminación mejorada de IgG sérica) en comparación con la eliminación de IgG (*in vitro* o *in vivo*) dirigida por cada uno de esos primer y segundo polipéptidos por separado. Por ejemplo, los antagonistas de FcRn de la presente invención pueden lograr una eliminación mejorada de IgG sérica mediante el entrecruzamiento de diferentes receptores de FcRn (por ejemplo, cuando cada uno de los polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn se une a una molécula de FcRn diferente).

Por ejemplo, la unión sinérgica puede conducir a una vida media prolongada de los antagonistas de FcRn de la presente invención en comparación con la vida media de cada uno de los polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención por sí solos.

Por ejemplo, la presencia tanto del primer como del segundo polipéptido en los antagonistas de FcRn de la presente invención puede conducir a una competición más eficaz de los antagonistas de FcRn de la presente invención con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en comparación con la competición de cada uno de esos primer y segundo polipéptidos individualmente con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Esto también conduciría a una eliminación mejorada de IgG sérica de los antagonistas de FcRn de la presente invención.

Por ejemplo, la afinidad (avidez) de los antagonistas de FcRn por la unión de FcRn puede aumentarse en comparación con la afinidad por FcRn de cada uno de los polipéptidos individuales que están comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención (efecto de avidez).

Por ejemplo, la unión sinérgica del primer y segundo polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente solicitud puede proporcionar un antagonista de FcRn con una vida media prolongada en comparación con la vida media de cada uno de esos primer y segundo polipéptidos individualmente permitiendo al mismo tiempo un bloqueo eficaz del receptor FcRn. Al trabajar con al menos dos unidades de unión a FcRn (los al menos dos polipéptidos, (a) y (b), como se ha descrito anteriormente),

los antagonistas de FcRn de la presente invención pueden ser capaces de bloquear FcRn (p. ej., uniéndose eficazmente a FcRn a pH endosómico ácido y fisiológico extracelular) de una manera mejorada debido al efecto de avidéz. De esta forma, al tener al menos dos polipéptidos ((a) y (b)) que producen un efecto de avidéz, la afinidad de cada uno de los dos polipéptidos a pH fisiológico extracelular se puede mantener dentro de ciertos límites, de modo que el mecanismo de reciclaje para prolongar la vida media sigue siendo eficaz, mientras que al mismo tiempo el receptor FcRn está suficientemente bloqueado para lograr un efecto terapéutico antagonista (p. ej., eliminación de IgG suficientemente aumentado).

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la presencia del primer polipéptido y el segundo polipéptido en los antagonistas de FcRn de la presente invención proporciona una mayor avidéz de los antagonistas de FcRn por FcRn. Por lo tanto, en una realización, los antagonistas de FcRn de la presente invención tienen una mayor afinidad (avidéz) por FcRn en comparación con la suma de las afinidades individuales por FcRn de los polipéptidos (a) y (b).

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la presencia del primer polipéptido y el segundo polipéptido en los antagonistas de FcRn de la presente invención proporciona una mayor eliminación de un agente que contiene Fc, tal como una mayor eliminación de IgG. Por lo tanto, en una realización, los antagonistas de FcRn de la presente invención proporcionan una mayor eliminación de un agente que contiene Fc, tal como una mayor eliminación de IgG, en comparación con la suma de la eliminación individual de los polipéptidos (a) y (b).

En determinadas realizaciones, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor Fc (FcRn); y el segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención se unen cooperativamente a FcRn, dando como resultado una afinidad mejorada (efecto de avidéz).

En determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn se unen específicamente a FcRn con mayor avidéz por FcRn en relación con la afinidad de una región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

En otra realización, los antagonistas de FcRn de la presente invención se unen específicamente a FcRn con mayor avidéz a un pH endosómico ácido y a un pH no ácido (es decir, a un pH fisiológico extracelular o neutro) por FcRn con respecto a la afinidad de una región Fc de IgG1 de tipo salvaje y/o con respecto a la suma de las afinidades por FcRn individuales de los polipéptidos (a) y (b).

En determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención se unen a FcRn con una dependencia del pH reducida con respecto a una región Fc de IgG de tipo salvaje. Por ejemplo, el bloqueo de FcRn puede aumentarse uniéndose a un pH fisiológico extracelular, ya que esto garantiza que el FcRn ya esté ocupado en la superficie celular y que permanezca bloqueado después de su absorción en la célula.

Por ejemplo, si el primer polipéptido comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención tiene una alta afinidad de unión por FcRn a pH fisiológico extracelular, este primer evento de unión podría facilitar la unión del segundo polipéptido a pH endosómico ácido porque el antagonista de FcRn ya está próximo al receptor FcRn. Este efecto sería independiente del epítipo específico del primer polipéptido en FcRn.

Por ejemplo, también se podría lograr una mayor avidez si ambos polipéptidos pueden unirse eficazmente a FcRn simultáneamente a un pH endosómico ácido. Por ejemplo, si el primer polipéptido tiene una alta afinidad de unión a FcRn a un pH fisiológico extracelular, este primer evento de unión podría facilitar la unión del segundo polipéptido a un pH endosómico ácido. Este efecto de avidez se mejoraría aún más si el primer polipéptido permaneciera unido a FcRn a un pH endosómico ácido.

En una realización, el primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

En una realización preferida, el primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

En determinadas realizaciones, tanto el primer polipéptido (a) como el segundo polipéptido (b) compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn a un pH endosómico ácido.

En determinadas realizaciones, el primer polipéptido (a) se une a FcRn a pH fisiológico extracelular o neutro (por ejemplo, aproximadamente pH 7.4) y/o a pH endosómico ácido (por ejemplo, aproximadamente pH 6.0) con mayor afinidad en comparación con la afinidad de unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

En determinadas realizaciones, el segundo polipéptido (b) se une a FcRn a pH fisiológico extracelular o neutro (por ejemplo, aproximadamente pH 7.4) y/o a pH endosómico ácido (por ejemplo, aproximadamente pH 6.0) con mayor afinidad en comparación con la afinidad de unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor Fc (FcRn) y el segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente solicitud se unen cooperativamente o sinérgicamente a FcRn, dando como resultado una vida media aumentada o al menos no sustancialmente reducida de los antagonistas de FcRn de la presente invención en comparación con la vida media del primer y/o segundo polipéptidos (individuales).

En realizaciones particulares, la invención proporciona antagonistas de FcRn que tienen un peso molecular de al menos aproximadamente 30 kDa, tal como aproximadamente 40 kDa, o aproximadamente 50 kDa, o aproximadamente 165 kDa, o aproximadamente 175 kDa, o más, tal como aproximadamente 300 kDa. Preferiblemente, los antagonistas de FcRn de la presente invención tienen un peso molecular de entre aproximadamente 30 kDa y aproximadamente 165 kDa y, en particular, tienen un peso molecular de entre 30 kDa y 165 kDa.

El segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente solicitud compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn y, por tanto, puede influir en la eliminación sérica de IgG.

El término "**eliminación**" como se utiliza en el presente documento, se refiere a la cantidad de una sustancia (p. ej., anticuerpo o polipéptido) eliminada (p. ej., mediante biotransformación y/o excreción) desde un compartimento o fluido (p. ej., sangre) por unidad de tiempo. Dado que la concentración del anticuerpo en su volumen de distribución se muestrea la mayoría de las veces mediante análisis de sangre

o plasma, las eliminaciones se describen la mayoría de las veces como "**eliminación plasmática**" o "**eliminación sanguínea**". Las técnicas adecuadas para medir la eliminación quedarán claras para el experto en la técnica. Por ejemplo, la cantidad de anticuerpo en el suero se puede medir mediante cromatografía líquida-espectrofotometría de masas en tándem (LC-MS/MS), y la eliminación se puede calcular representando el perfil de concentración-tiempo, seguido del cálculo/estimación del área bajo el perfil de concentración plasmática frente al tiempo (AUC_{LAST}). El AUC (expresada en $mg \cdot h/l$) es indicativa de la exposición corporal total a un fármaco a lo largo del tiempo después de la administración de una dosis del fármaco. Por tanto, proporciona información sobre la tasa de eliminación del fármaco del cuerpo y la dosis administrada. En consecuencia, se puede utilizar para calcular la tasa de eliminación del cuerpo (% de reducción en la exposición a IgG).

Por lo tanto, en una realización los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de un agente que contiene Fc, tal como una IgG. En una realización, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de una IgG circulante en el suero o plasma de un sujeto. En determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de IgG en aproximadamente un 50 %-100 %, preferiblemente en aproximadamente un 70 %-90 %, tal como aproximadamente un 78 % o aproximadamente un 80 %. En determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de IgG más de 30 veces, tal como 45 o 51 veces.

Además, los efectos de unión aditivos o sinérgicos entre los polipéptidos (a) y (b) pueden mejorar aún más la eliminación de IgG sérica dirigida por los antagonistas de FcRn de la presente invención (es decir, eliminación mejorada de IgG sérica) en comparación con la eliminación de IgG dirigida por cada uno de los polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención.

Por lo tanto, en determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de IgG sérica en comparación con la eliminación de IgG dirigida por cada uno de los polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención de forma aislada. En otras realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de IgG sérica en comparación con la eliminación de IgG dirigida por el polipéptido (b), tal como TP061, de forma aislada. En otras realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de IgG sérica en comparación con la eliminación de IgG dirigida por el polipéptido (b), tal como TP061, de forma aislada entre 1.5 y 5 veces, tal como 1.6 o 1.8 veces. En otras realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención aumentan la eliminación de IgG sérica en comparación con la eliminación de IgG dirigida por el polipéptido (b), tal como TP061, de forma aislada en más de un 10 %, tal como un 14 % o un 16 %.

Además, los efectos de unión aditivos o sinérgicos de los polipéptidos (a) y (b) comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención a FcRn pueden disminuir aún más la vida media de la IgG sérica dirigida por los antagonistas de FcRn de la presente invención (es decir, eliminación de IgG sérica mejorada) en comparación con la vida media de IgG dirigida por cada uno de los polipéptidos (a) y (b) en su forma individual.

En otras realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención disminuyen la vida media de un agente que contiene Fc, tal como una IgG. En realizaciones preferidas, los antagonistas de FcRn de la presente invención disminuyen la vida media de un agente que contiene Fc, tal como una IgG, en comparación con la disminución de la vida media de IgG dirigida por cada uno de los polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención. presente invención de forma aislada. En otras realizaciones, los antagonistas de FcRn de la presente invención disminuyen la vida media de la IgG sérica en comparación con la disminución de la IgG dirigida por el polipéptido (b), tal como TP061, de forma aislada.

El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención

Como se ha descrito anteriormente, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden (a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo en FcRn. Este primer polipéptido no está limitado siempre que se una específicamente a un epítipo en FcRn. Por ejemplo, el primer polipéptido puede competir con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, es decir, la presencia del primer polipéptido puede provocar una disminución en la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn en comparación con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn en ausencia del primer polipéptido. En una realización preferida, el primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente tecnología no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. En una realización, el primer polipéptido no es un antagonista de FcRn como tal en su forma aislada.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un Affibody® (molécula de aficuerpo), un fragmento variable monocatenario (scFv), un Fab, una proteína repetida de anquirina diseñada (DARPin®), una Nanofitin® (también conocida como afitina) o una secuencia de dominio variable de inmunoglobulina (ISVD).

Las afitinas son proteínas artificiales con la capacidad de unirse selectivamente a antígenos. Se proceden estructuralmente de la proteína de unión al ADN Sac7d, que se encuentra en *Sulfolobus acidocaldarius*. Debido a su pequeño tamaño y alta solubilidad, pueden producirse fácilmente en grandes cantidades usando sistemas de expresión bacterianos (véase, por ejemplo, Kalichuk V. *et al.*, "A novel, smaller scaffold for Affitins: Showcase with binders specific for EpCAM", *Biotechnol Bioeng.* 2018; 115(2):290-299). En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en una Nanofitin® (también conocida como afitina). En este caso, la afitina preferiblemente no interfiere (por ejemplo, no compite) con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un scFv. Un scFv es una proteína de fusión de las regiones variables de las cadenas pesada (VH) y ligera (VL) de inmunoglobulinas, conectadas con un péptido enlazador corto de diez a

aproximadamente 25 aminoácidos. Esta proteína generalmente conserva la especificidad de la inmunoglobulina original, a pesar de la eliminación de las regiones constantes y la introducción del enlazador. En este caso, el scFv preferiblemente no interfiere (por ejemplo, no compite) con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn.

5 En otra realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD). Por lo tanto, en una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) se une específicamente a un epítipo en FcRn que es diferente de los epítopos unidos por los ligandos de FcRn naturales conocidos (es decir, albúmina
10 sérica e IgG). Por lo tanto, este polipéptido (a) no interferiría (por ejemplo, no competiría) con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un anticuerpo o fragmento del mismo.

El término "**anticuerpo**" como se utiliza en el presente documento se refiere a un anticuerpo
15 intacto, o un fragmento del mismo, tal como un fragmento de unión del mismo, que compite con el anticuerpo intacto por la unión específica. Por lo tanto, el término "anticuerpo" como se utiliza en el presente documento, se refiere a cualquier anticuerpo funcional que sea capaz de unirse específicamente al antígeno de interés. Un fragmento de anticuerpo o fragmento de un anticuerpo como se utiliza en el presente documento se refiere a una porción de un anticuerpo que conserva la capacidad del anticuerpo
20 para unirse específicamente al antígeno. Los fragmentos de anticuerpos incluyen, entre otros, regiones Fc, dominios Fc, F(ab), F(ab'), F(ab')₂, Fv, anticuerpos monocatenarios, (scFv), anticuerpos monodominio, diacuerpos o cualquier otra porción del anticuerpo que conserve la capacidad de competir con el anticuerpo intacto por la unión específica.

Por ejemplo, el al menos un primer polipéptido (a) puede comprender o consistir en un dominio Fc
25 o un fragmento del mismo.

Como se utiliza en la presente descripción, las expresiones "**Fc**", "**dominio Fc**", "**región Fc**" o "**fragmento Fc**" se usan indistintamente y se definen como la porción de una región constante de cadena pesada que comienza en la región bisagra justo en posición *N*-terminal del sitio de escisión de papaína (es decir, el residuo 216 en IgG, tomando el primer residuo de la región constante de la cadena pesada como
30 114) y termina en el extremo C de la cadena pesada. Por consiguiente, un Fc completo, un dominio Fc, una región Fc o un fragmento Fc comprende al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH₂ y un dominio CH₃. Por ejemplo, un dominio Fc puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, dos dominios CH₂ y dos dominios CH₃. Se muestra el alineamiento de secuencias de porciones (dominios CH₂ y CH₃, residuos 231 a 447, numeración EU) de dominios Fc de IgG1, IgG2, IgG3
35 e IgG4 humanas ilustrativas en la FIG. 32 del DOCUMENTO WO 2021/016571. La expresión abarca Fc nativo/de tipo salvaje y variantes de Fc como se describe en el presente documento e incluye moléculas en forma monomérica o multimérica (por ejemplo, dimérica), ya sea digeridas a partir del anticuerpo

completo o producidas por otros medios tales como tecnología recombinante. Véase, por ejemplo, Ying *et al.*, *JBC* (2013) 288:25154-164; y Yang *et al.*, *JBC* (2019) 294:10638-48.

La fuente de inmunoglobulina original del Fc nativo es normalmente de origen humano y puede ser cualquiera de las inmunoglobulinas, tales como IgG1 e IgG2. Las moléculas de Fc naturales están formadas por polipéptidos monoméricos que pueden unirse en formas dímeras o multímeras mediante una asociación covalente (es decir, enlaces disulfuro) y no covalente. El número de enlaces disulfuro intermoleculares entre subunidades monoméricas de moléculas de Fc nativas varía de 1 a 4 dependiendo de la clase (p. ej., IgG, IgA e IgE) o subclase (p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgA1 e IgA2). Un ejemplo de Fc natural es un dímero unido por enlaces disulfuro resultante de la digestión con papaína de una IgG. Como se usa en el presente documento, la expresión "Fc natival" es genérica para las formas monoméricas, diméricas y multiméricas.

La expresión "Fc", "dominio Fc", "región Fc" o "fragmento Fc" utilizada en la presente descripción abarca también "**variantes de Fc**", "**Fc modificado**" o "**dominios Fc modificados**", es decir, moléculas o secuencias que están modificadas a partir de un Fc nativo/de tipo salvaje pero que aún comprenden un sitio de unión para el FcRn. Una variante de Fc o un dominio Fc modificado también puede ser más corto o más largo que un Fc nativo (por ejemplo, más corto o más largo que una secuencia que abarca los residuos 216 a 447 de la IgG humana, numeración Eu); por ejemplo, la variante de Fc o el Fc modificado pueden carecer de ciertos residuos de aminoácidos *N*-terminales y/o *C*-terminales del Fc nativo, o pueden contener residuos de aminoácidos adicionales en el extremo *N* y/o *C* en comparación con un Fc nativo. Un dominio Fc modificado en sí mismo no incluye un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo o una variante de anticuerpo, o un dominio de unión a diana de una inmunoadhesina. La expresión abarca una molécula o secuencia que está humanizada a partir de un Fc nativo no humano. Además, un Fc nativo comprende regiones que se pueden eliminar porque proporcionan características estructurales o actividades biológicas que no son necesarias para los antagonistas de FcRn (p. ej., polipéptidos de unión similares a anticuerpos) como se describe en el documento WO 2021/016571. Por lo tanto, la expresión abarca una molécula o secuencia que carece de uno o más sitios o residuos de Fc nativos, o en la que uno o más sitios o residuos de Fc han sido modificados, que afectan o están implicados en: (1) formación de enlaces disulfuro, (2) incompatibilidad con una célula hospedadora seleccionada, (3) heterogeneidad *N*-terminal tras la expresión en una célula hospedadora seleccionada, (4) glicosilación, (5) interacción con el complemento, (6) unión a un receptor de Fc distinto de un receptor de rescate (un FcyR), o (7) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

En determinadas realizaciones, el dominio Fc comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención (ya sea como el al menos un primer polipéptido (a) y/o como el al menos un segundo polipéptido (b)) puede comprender una o más mutaciones de aminoácidos (p. ej., sustituciones) que alteran las funciones efectoras (p. ej., función ADCC o CDC) del dominio Fc, en comparación con una molécula de tipo salvaje correspondiente. En determinadas realizaciones, el dominio Fc comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención puede comprender una o más mutaciones de aminoácidos (p. ej., sustituciones) que proporcionan una o más características bioquímicas deseadas tales como la capacidad de permanecer monomérico, la capacidad de dimerizar de forma no covalente, una mayor capacidad para

localizarse en un sitio diana y patrones de glicosilación, en comparación con la molécula de tipo salvaje correspondiente. Por ejemplo, el dominio Fc modificado puede tener una glicosilación reducida (p. ej., N u O-glicosilación). En el documento WO 2005/018572 se divulgan sustituciones de aminoácidos ilustrativas que confieren una glicosilación reducida o alterada. En algunas realizaciones, el dominio Fc se modifica para eliminar la glicosilación (por ejemplo, anticuerpos "agly").

En una realización preferida, la región Fc comprendida en el antagonista de FcRn de la presente invención (ya sea como el al menos un primer polipéptido (a) y/o como el al menos un segundo polipéptido (b)) está en una forma dimérica y comprende al menos una región bisagra o una parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, véase, por ejemplo, la Figura 1. Por lo tanto, en esta realización, el al menos un primer polipéptido (a) y/o el al menos un segundo polipéptido (b), si comprende o consiste en una región Fc, en realidad puede comprender al menos dos cadenas o fragmentos polipeptídicos, en donde al menos parte de ambos conforman la región Fc. Las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden ser iguales (y entonces, el dominio Fc sería un homodímero) o pueden ser diferentes (y entonces, el dominio Fc sería un heterodímero). Las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden estar unidos entre sí, por ejemplo, mediante puentes disulfuro, como entenderá el experto.

Por lo tanto, en esta realización preferida, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende al menos dos polipéptidos (a) y/o al menos dos polipéptidos (b), es decir, los dos polipéptidos que conforman el dominio Fc dimérico. El dominio Fc es preferiblemente dimérico, tal como homodimérico o heterodimérico, más preferiblemente heterodimérico. En esta realización preferida, al menos uno y preferiblemente los dos dominios CH3 comprendidos en el dominio Fc comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención (ya sea como el primer polipéptido (a) y/o el segundo polipéptido (b), véase más adelante), comprenden mutaciones de protuberancia en cavidad. Por lo tanto, en esta realización preferida, el dominio Fc es heterodimérico. Estas mutaciones sirven para modificar por ingeniería genética una interfaz entre un primer y un segundo polipéptido (dominios CH3, en este caso específico) para heterooligomerización usando la tecnología de "protuberancias y cavidades" como se describe, por ejemplo, en los documentos US 8216805, WO 1996/27011, Ridgway, JB. *et al.*, "Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization", *Protein engineering*, 1996, 9, 7:617-21 o en Merchant *et al.*, "An efficient route to human bispecific IgG", *Nature Biotechnology*, 1998, 16: 677-681. La interfaz preferida comprende al menos una parte del dominio CH3 del dominio Fc. Las "protuberancias" se construyen reemplazando pequeñas cadenas laterales de aminoácidos de la interfaz del primer polipéptido (el primer CH3 en este caso) con cadenas laterales más grandes (p. ej., tirosina o triptófano). Opcionalmente se crean "cavidades" compensatorias de tamaño idéntico o similar a las protuberancias en la interfaz del segundo polipéptido (el segundo CH3 en este caso) reemplazando cadenas laterales de aminoácidos grandes por otras más pequeñas (p. ej., alanina o treonina). Cuando existe una protuberancia o cavidad adecuadamente posicionada y dimensionada en la interfaz del primer o segundo polipéptido, solo es necesario modificar mediante ingeniería genética una cavidad o protuberancia correspondiente, respectivamente, en la interfaz adyacente. Véanse los documentos US

8216805, WO 1996/27011, Ridgway, JB. *et al.*, "'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization", Protein engineering, 1996, 9, 7:617-21 o Merchant *et al.*, "An efficient route to human bispecific IgG", Nature Biotechnology, 1998, 16: 677-681 si se desean más detalles. En una realización preferida, los aminoácidos HY en el dominio CH3 de los dominios Fc se mutan a RF, tal como en las posiciones 435 y 436 (H435R e Y436F en el dominio CH3 como se describe por Jendeborg, L. *et al.* (1997, J. Immunological Meth., 201:25-34)). Por lo tanto, en esta realización preferida, el dominio Fc es heterodimérico. Pero el dominio Fc también puede ser homodimérico (es decir, las dos cadenas polipeptídicas o fragmentos que conforman la región Fc son iguales).

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un ISVD. Preferiblemente, el ISVD no compete con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn y/o no es un antagonista de FcRn.

La expresión "**dominio variable único de inmunoglobulina**" (**ISVD**), utilizada indistintamente con la expresión "**dominio variable único**", define las moléculas de inmunoglobulina en donde el sitio de unión al antígeno está presente y formado por un único dominio de inmunoglobulina. Esto diferencia a los ISVD de las "inmunoglobulinas convencionales" (por ejemplo, anticuerpos monoclonales) o sus fragmentos (tales como Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, di-scFv), en las que dos dominios de inmunoglobulina, concretamente dos dominios variables, interaccionan para formar un sitio de unión a antígeno. Típicamente, en las inmunoglobulinas convencionales, un dominio variable de la cadena pesada (V_H) y un dominio variable de la cadena ligera (V_L) interaccionan para formar un sitio de unión a antígeno. En este caso, las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) del V_H y el V_L contribuirán al sitio de unión a antígeno, es decir, un total de 6 CDR participarán en la formación del sitio de unión a antígeno.

En vista de la definición anterior, el dominio de unión a antígeno de un anticuerpo convencional de 4 cadenas (tal como una molécula IgG, IgM, IgA, IgD o IgE; conocidas en la técnica) o de un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv, tal como un Fv con enlaces disulfuro o un fragmento scFv, o un diacuerpo (todos conocidos en la técnica) procedente de dicho anticuerpo convencional de 4 cadenas, no se consideraría normalmente un dominio variable único de inmunoglobulina, ya que, en estos casos, la unión al epítipo respectivo de un antígeno normalmente no se produciría por un (único) dominio de inmunoglobulina, sino por un par de dominios de inmunoglobulina (asociados), tales como los dominios variables de cadena ligera y pesada, es decir, por un par V_H-V_L de dominios de inmunoglobulina, que se unen conjuntamente a un epítipo del antígeno respectivo.

En cambio, los ISVD son capaces de unirse específicamente a un epítipo del antígeno sin emparejarse con un dominio variable de inmunoglobulina adicional. El sitio de unión de un dominio variable individual de inmunoglobulina está formado por un solo dominio V_H, un solo dominio V_{HH} o un solo dominio V_L.

En el contexto de la presente invención, el dominio variable único puede ser una secuencia de dominio variable de cadena ligera (p. ej., una secuencia V_L) o un fragmento adecuado de la misma; o una secuencia de dominio variable de cadena pesada (p. ej., una secuencia V_H o secuencia V_{HH}) o un fragmento adecuado de la misma; siempre que sea capaz de formar una unidad de unión a antígeno única (es decir,

una unidad de unión a antígeno funcional que consiste esencialmente en el dominio variable único, de tal manera que el dominio de unión a antígeno único no necesita interactuar con otro dominio variable para formar una unidad de unión a antígeno funcional).

Un ISVD puede ser, por ejemplo, un ISVD de cadena pesada, tal como un V_H , V_{HH} , incluido un V_H camelizado o V_{HH} humanizado. Preferiblemente, es un V_{HH} , incluido un V_H camelizado o V_{HH} humanizado. Los ISVD de cadena pesada pueden derivarse de un anticuerpo tetracatenario convencional o de un anticuerpo de cadena pesada.

Por ejemplo, el ISVD puede ser un anticuerpo de dominio único (o una secuencia de aminoácidos que sea adecuada para su uso como anticuerpo de dominio único), un "dAb" o dAb (o una secuencia de aminoácidos que sea adecuada para su uso como dAb) o un ISVD de Nanobody® (como se define en el presente documento, e incluyendo pero no de forma limitativa un V_{HH}); otros dominios variables únicos, o cualquier fragmento adecuado de cualquiera de ellos. Preferiblemente, el ISVD es un V_H , un V_H humanizado, un V_H humano, un V_{HH} , un V_{HH} humanizado o un V_H camelizado. Más preferiblemente, el ISVD es un ISVD de Nanobody® (tal como un V_{HH} , incluido un V_{HH} humanizado o V_H camelizado) o un fragmento adecuado del mismo. *Nanobody®* es una marca registrada de Ablynx N.V.

Los "dominios V_{HH} ", también conocidos como V_{HH} , fragmentos de anticuerpo V_{HH} y anticuerpos V_{HH} , se han descrito originariamente como el dominio variable de inmunoglobulina de unión a antígeno de los "anticuerpos de cadena pesada" (es decir, de "anticuerpos desprovistos de cadenas ligeras"; Hamers-Casterman *et al.* Nature 363: 446-448, 1993). La expresión "dominio V_{HH} " se ha elegido para distinguir estos dominios variables de los dominios variables de la cadena pesada que están presentes en anticuerpos de 4 cadenas convencionales (a los que se hace referencia en este documento como "dominios V_H ") y de los dominios variables de la cadena ligera que están presentes en anticuerpos de 4 cadenas convencionales (a los que se hace referencia en este documento como "dominios V_L "). Para una descripción más detallada de V_{HH} , se hace referencia al artículo de revisión de Muyldermans *et al.* 2001 (Reviews in Molecular Biotechnology 74: 277-302, 2001).

Normalmente, la generación de inmunoglobulinas implica la inmunización de animales de experimentación, la fusión de células productoras de inmunoglobulinas para crear hibridomas y el cribado de las especificidades deseadas. Como alternativa, se pueden generar inmunoglobulinas mediante el cribado de bibliotecas sintéticas o sin tratamiento previo, por ejemplo, mediante presentación en fagos.

La generación de secuencias de inmunoglobulinas, como las V_{HH} de Nanobody®, se ha descrito ampliamente en diversas publicaciones, entre las que pueden citarse destacar el documento WO 94/04678, Hamers-Casterman *et al.* 1993 y Muyldermans *et al.* 2001 (Reviews in Molecular Biotechnology 74: 277-302, 2001). En estos métodos, se inmuniza a camélidos con el antígeno diana para inducir una respuesta inmunitaria contra dicho antígeno diana. El repertorio de V_{HH} obtenido de dicha inmunización se criba adicionalmente para detectar V_{HH} que se unen al antígeno diana.

En estos casos, la generación de anticuerpos requiere un antígeno purificado para la inmunización y/o el cribado. Los antígenos pueden purificarse de fuentes naturales o en el transcurso de una producción recombinante.

La inmunización y/o el cribado de secuencias de inmunoglobulina pueden realizarse usando fragmentos peptídicos de dichos antígenos. La presente tecnología puede utilizar secuencias de inmunoglobulinas de diferente origen, que comprenden secuencias de inmunoglobulinas de ratón, rata, conejo, burro, humano y camélido. La tecnología también incluye secuencias totalmente humanas, humanizadas o quiméricas. Por ejemplo, la invención comprende secuencias de inmunoglobulina de camélido y secuencias de inmunoglobulina de camélido humanizadas, o anticuerpos de dominio camelizado, por ejemplo, dAb camelizados como los descritos por Ward *et al* (véase, por ejemplo, el documento WO 94/04678 y Riechmann, Febs Lett., 339:285-290, 1994 y Prot. Eng., 9:531-537, 1996). Además, la invención también utiliza secuencias de inmunoglobulina fusionadas, p. ej. formando una construcción multivalente y/o multiespecífica (para polipéptidos multivalentes y multiespecíficos que contienen uno o más dominios V_{HH} y su preparación, también se hace referencia a Conrath *et al.*, J. Biol. Chem., Vol. 276, 10. 7346-7350, 2001, así como, por ejemplo, a los documentos WO 96/34103 y WO 99/23221), y secuencias de inmunoglobulina que comprenden etiquetas u otras fracciones funcionales, por ejemplo, toxinas, marcadores, productos radioquímicos, etc., que pueden derivar de las secuencias de inmunoglobulina de la presente tecnología.

Un " V_{HH} humanizado" comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos de un dominio V_{HH} natural, pero que se ha "humanizado", es decir, sustituyendo uno o más residuos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de dicha secuencia de V_{HH} natural (y en particular en las secuencias marco) por uno o más de los residuos de aminoácidos que se encuentran en la posición o posiciones correspondientes en un dominio V_H de un anticuerpo convencional de 4 cadenas de un ser humano (p. ej., los indicados anteriormente). Esto puede realizarse de una manera por sí misma conocida, que será evidente para el experto, por ejemplo basándose en la descripción adicional del presente documento y la técnica anterior (p. ej., el documento WO 2008/020079). Una vez más, cabe señalar que dichos V_{HH} humanizados pueden obtenerse de cualquier manera adecuada por sí misma conocida y, por lo tanto, no se limitan estrictamente a los polipéptidos que se han obtenido usando un polipéptido que comprende un dominio V_{HH} de origen natural como material de partida.

Un " V_H camelizado" comprende una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos de un dominio V_H natural, pero que se ha "camelizado", es decir, se he sustituido uno o más residuos de aminoácidos en la secuencia de aminoácidos de un dominio V_H natural de un anticuerpo convencional de 4 cadenas por uno o más de los residuos de aminoácidos que se encuentran en la posición o posiciones correspondientes en un dominio V_{HH} de un anticuerpo de cadena pesada. Esto puede realizarse de una manera por sí misma conocida, que será evidente para el experto, por ejemplo basándose en la descripción adicional del presente documento y la técnica anterior (p. ej., el documento WO 2008/020079). Dichas sustituciones "camelizantes" se insertan preferiblemente en posiciones de aminoácidos que forman y/o están presentes en la interfaz V_H - V_L , y/o en los denominados residuos característicos de camélidos, como se definen en el presente documento (véanse, por ejemplo, el documento WO 94/04678 y Davies y Riechmann (1994 y 1996), mencionado anteriormente). Preferiblemente, la secuencia de V_H que se utiliza como material de partida o punto de partida para generar

o diseñar el V_H camelizado es preferiblemente una secuencia de V_H de un mamífero, más preferiblemente la secuencia de V_H de un ser humano, tal como una secuencia de V_H3 . Una vez más, cabe señalar que dicho V_H camelizado pueden obtenerse de cualquier manera adecuada conocida en sí y, por lo tanto, no se limita estrictamente a los polipéptidos que se han obtenido usando un polipéptido que comprende un dominio V_H de origen natural como material de partida.

Puede considerarse que la estructura de una secuencia de ISVD comprende cuatro regiones marco ("FR"), a las que se hace referencia en la técnica y en el presente documento como "Región marco 1" ("FR1"); como "Región marco 2" ("FR2"); como "Región marco 3" ("FR3"); y como "Región marco 4" ("FR4"), respectivamente; estando dichas regiones marco interrumpidas por tres regiones determinantes de la complementariedad ("CDR"), denominadas en la técnica y en el presente documento "Región determinante de la complementariedad 1" ("CDR1"); "Región determinante de la complementariedad 2" ("CDR2"); y "Región determinante de la complementariedad 3" ("CDR3"), respectivamente.

Como se describe adicionalmente en el párrafo q) en las páginas 58 y 59 del documento WO 08/020079, los residuos de aminoácidos de un dominio variable único de inmunoglobulina se pueden numerar de acuerdo con la numeración general para los dominios V_H proporcionada por Kabat *et al.* ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, publicación n.º 91), aplicado a los dominios V_{HH} de camélidos en el artículo de Riechmann y Muyldermans 2000 (J. Immunol. Methods 240 (1-2): 185-195; véase, por ejemplo, la Figura 2 de esta publicación). Cabe señalar que, como es bien sabido en la técnica para los dominios V_H y para los dominios V_{HH} , el número total de residuos de aminoácidos en cada una de las CDR puede variar y puede no corresponder al número total de residuos de aminoácidos indicado por la numeración Kabat (es decir, una o más posiciones según la numeración Kabat pueden no estar ocupadas en la secuencia real, o la secuencia real puede contener más residuos de aminoácidos que el número permitido por la numeración Kabat). Esto significa que, en general, la numeración de acuerdo con Kabat puede corresponder o no a la numeración real de los residuos de aminoácidos en la secuencia real. El número total de residuos aminoacídicos en un dominio V_H y un dominio V_{HH} estará normalmente en el intervalo de 110 a 120, a menudo entre 112 y 115. Sin embargo, cabe señalar que secuencias más cortas y más largas también pueden ser adecuadas para los propósitos descritos en este documento.

En la presente solicitud, a menos que se indique lo contrario, las secuencias CDR se determinaron según la numeración AbM descrita en Kontermann y Dübel (Eds. 2010, Antibody Engineering, vol 2, Springer Verlag Heidelberg Berlin, Martin, capítulo 3, págs. 33-51). De acuerdo con este método, la FR1 comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 1-25, la CDR1 comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 26-35, la FR2 comprende los aminoácidos en las posiciones 36-49, la CDR2 comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 50-58, la FR3 comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 59-94, la CDR3 comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 95-102 y la FR4 comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 103-113.

La determinación de las regiones CDR también puede realizarse de acuerdo con diferentes métodos. En la determinación de CDR de acuerdo con Kabat, la FR1 de un dominio variable único de

inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 1-30, la CDR1 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 31-35, la FR2 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los aminoácidos en las posiciones 36-49, la CDR2 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 50-65, la FR3 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 66-94, la CDR3 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 95-102 y la FR4 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 103-113.

En tal secuencia de inmunoglobulina, las secuencias marco pueden ser cualquier secuencia marco adecuada, y los ejemplos de secuencias marco adecuadas resultarán evidentes para el experto, por ejemplo, basándose en los libros de texto estándar y la divulgación adicional y la técnica anterior que se mencionan en el presente documento.

Las secuencias marco son preferiblemente (una combinación adecuada de) secuencias marco de inmunoglobulina o secuencias marco que han derivado de secuencias marco de inmunoglobulina (por ejemplo, por humanización o camelización). Por ejemplo, las secuencias estructurales pueden ser secuencias estructurales procedentes de un dominio variable de la cadena ligera (por ejemplo, una secuencia de V_L) y/o de un dominio variable de la cadena pesada (por ejemplo, una secuencia de V_H o secuencia de V_{HH}). En un aspecto particularmente preferido, las secuencias marco son secuencias marco que proceden de una secuencia de V_{HH} (en la que dichas secuencias marco pueden opcionalmente haberse humanizado parcial o totalmente) o son secuencias de V_H convencionales que se han camelizado (como se define en el presente documento).

En particular, las secuencias marco presentes en la secuencia del ISVD utilizada en la invención pueden contener uno o más residuos característicos (como se define en el presente documento), de modo que la secuencia del ISVD es una molécula de Nanobody®, tal como un V_{HH} , incluido un V_{HH} humanizado o V_H camelizado. Algunos ejemplos preferidos, pero no limitantes, de (combinaciones adecuadas de) tales secuencias marco quedarán claros a partir de la divulgación adicional en el presente documento.

Debe tenerse en cuenta la invención no está limitada en cuanto al origen de la secuencia del ISVD (o de la secuencia de nucleótidos utilizada para expresarlo), ni en cuanto a la forma en que la secuencia del ISVD o la secuencia de nucleótidos es (o ha sido) generada u obtenida. De este modo, las secuencias de ISVD pueden ser secuencias naturales (de cualquier especie adecuada) o secuencias sintéticas o semisintéticas. En un aspecto específico, pero no limitante, la secuencia de ISVD es una secuencia de origen natural (de cualquier especie adecuada) o una secuencia sintética o semisintética, incluidas, pero sin limitación, secuencias de inmunoglobulina "humanizadas" (como se definen en el presente documento) (tales como secuencias de inmunoglobulina de ratón o conejo parcial o totalmente humanizadas y, en particular, secuencias de V_{HH} parcial o totalmente humanizadas), secuencias de inmunoglobulina "camelizadas" (como se definen en el presente documento) así como secuencias de inmunoglobulina que se han obtenido mediante técnicas tales como la maduración de la afinidad (por ejemplo, partiendo de secuencias de inmunoglobulina sintéticas, aleatorias o naturales), injerto de CDR, revestimiento,

combinación de fragmentos procedentes de diferentes secuencias de inmunoglobulina, ensamblaje por PCR usando cebadores solapantes y técnicas similares para la genomanipulación de secuencias de inmunoglobulina bien conocidas por el experto; o cualquier combinación adecuada de cualquiera de las anteriores.

5 Del mismo modo, las secuencias de nucleótidos pueden ser secuencias de nucleótidos naturales o secuencias sintéticas o semisintéticas, y pueden ser, por ejemplo, secuencias aisladas por PCR a partir de un molde natural adecuado (p. ej., ADN o ARN aislado de una célula), secuencias de nucleótidos que se han aislado de una biblioteca (y, en particular, de una biblioteca de expresión), secuencias de nucleótidos que se han preparado introduciendo mutaciones en una secuencia de nucleótidos natural
10 (utilizando cualquier técnica adecuada por sí misma conocida, tal como la PCR de emparejamiento erróneo), secuencias de nucleótidos que se han preparado mediante PCR utilizando cebadores solapantes, o secuencias de nucleótidos que se han preparado utilizando técnicas de síntesis de ADN por sí mismas conocidas.

Para una descripción general de los ISVD, se hace referencia a la descripción adicional siguiente, así como a la técnica anterior mencionada en el presente documento. A este respecto, cabe señalar, sin embargo, que esta descripción y la técnica anterior describían principalmente ISVD de la denominada "clase V_H3" (es decir, ISVD con un alto grado de homología de secuencia con las secuencias de la línea germinal humana de la clase V_H3, tales como DP-47, DP-51 o DP-29). Sin embargo, cabe señalar que la invención en su sentido más amplio generalmente puede utilizar cualquier tipo de ISVD y, por ejemplo,
20 también utiliza los ISVD pertenecientes a la denominada "clase V_H4" (es decir, ISVD con un alto grado de homología de secuencia con las secuencias de la línea germinal humana de la clase V_H4, tales como DP-78), como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2007/118670.

Generalmente, los ISVD (en particular las secuencias de V_{HH}, incluidas las secuencias de V_{HH} (parcialmente) humanizadas y las secuencias de V_H camelizadas) pueden caracterizarse por la presencia de uno o más "residuos característicos" (como se describe en el presente documento) en una o más de las secuencias marco (de nuevo como se describe adicionalmente en el presente documento). Por tanto, en general, un ISVD puede definirse como una secuencia de inmunoglobulina con la estructura (general)

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

en la que FR1 a FR4 se refieren a las regiones estructurales 1 a 4, respectivamente, y en la que CDR1 a CDR3 se refieren a las regiones determinantes de la complementariedad 1 a 3, respectivamente,
30 y en la que uno o más de los residuos distintivos son como se definen con más detalle en este documento.

En particular, un ISVD puede ser una secuencia de inmunoglobulina con la estructura (general)

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

en la que FR1 a FR4 se refieren a las regiones estructurales 1 a 4, respectivamente, y en la que CDR1 a CDR3 se refieren a las regiones determinantes de la complementariedad 1 a 3, respectivamente,
35 y en la que las secuencias estructurales son como se definen con más detalle en este documento.

Más en particular, un ISVD puede ser una secuencia de inmunoglobulina con la estructura (general)

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

en donde FR1 a FR4 se refieren a las regiones marco 1 a 4, respectivamente, y en la que CDR1 a CDR3 se refieren a las regiones determinantes de complementariedad 1 a 3, respectivamente, y en donde:

uno o más de los residuos de aminoácidos en las posiciones 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 y 108 de acuerdo con la numeración Kabat se eligen de entre los residuos de referencia mencionados en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2: Restos característicos en los ISVD de Nanobody®

Posición	V _H 3 humano	Residuos distintivos
11	L, V; predominantemente L	L, S, V, M, W, F, T, Q, E, A, R, G, K, Y, N, P, I; preferentemente L
37	V, I, F; normalmente V	F ⁽¹⁾ , Y, V, L, A, H, S, I, W, C, N, G, D, T, P, preferiblemente F ⁽¹⁾ o Y
44 ⁽⁸⁾	G	E ⁽³⁾ , Q ⁽³⁾ , G ⁽²⁾ , D, A, K, R, L, P, S, V, H, T, N, W, M, I; preferiblemente G ⁽²⁾ , E ⁽³⁾ o Q ⁽³⁾ ; mucho más preferiblemente G ⁽²⁾ o Q ⁽³⁾ .
45 ⁽⁸⁾	L	L ⁽²⁾ , R ⁽³⁾ , P, H, F, G, Q, S, E, T, Y, C, I, D, V; preferiblemente L ⁽²⁾ o R ⁽³⁾
47 ⁽⁸⁾	W, Y	F ⁽¹⁾ , L ⁽¹⁾ o W ⁽²⁾ , G, I, S, A, V, M, R, Y, E, P, T, C, H, K, Q, N, D; preferiblemente W ⁽²⁾ , L ⁽¹⁾ o F ⁽¹⁾
83	R o K; normalmente R	R, K ⁽⁵⁾ , T, E ⁽⁵⁾ , Q, N, S, I, V, G, M, L, A, D, Y, H; preferiblemente K o R; muy preferiblemente K
84	A, T, D; predominantemente A	P ⁽⁵⁾ , S, H, L, A, V, I, T, F, D, R, Y, N, Q, G, E; preferiblemente P
103	W	W ⁽⁴⁾ , R ⁽⁶⁾ , G, S, K, A, M, Y, L, F, T, N, V, Q, P ⁽⁶⁾ , E, C; preferiblemente W
104	G	G, A, S, T, D, P, N, E, C, L; preferentemente G
108	L, M o T; predominantemente L	Q, L ⁽⁷⁾ , R, P, E, K, S, T, M, A, H; preferiblemente Q o L ⁽⁷⁾
Notas: En particular, pero no exclusivamente, en combinación con KERE o KQRE en las posiciones 43-46. Por lo general como GLEW en las posiciones 44-47. Por lo general como KERE o KQRE en las posiciones 43-46, por ejemplo, como KEREL, KERE, KQREL, KQREF, KEREG, KQREW o KQREG en las posiciones 43-47. Como alternativa, también son posibles secuencias tales como TERE (por ejemplo, TEREL), TQRE (por ejemplo, TQREL), KECE (por ejemplo, KECEL o KECER), KQCE (por ejemplo, KQCEL), RERE (por ejemplo, REREG), RQRE (por ejemplo, RQREL, RQREF o RQREW), QERE (por ejemplo, QEREG), QQRE, (por ejemplo, QQREW, QQREL o QQREF), KGRE (por ejemplo, KGREG), KDRE (por ejemplo, KDREV). Otras secuencias posibles pero menos preferidas incluyen, por ejemplo, DECKL y NVCEL.		

Tanto con GLEW en las posiciones 44-47 como con KERE o KQRE en las posiciones 43-46.
 A menudo como KP o EP en las posiciones 83-84 de los dominios V_{HH} de origen natural.
 En particular, pero no exclusivamente, en combinación con GLEW en las posiciones 44-47.
 A condición de que cuando las posiciones 44-47 sean GLEW, la posición 108 sea siempre Q en las
 5 secuencias de V_{HH} (no humanizado) que también contienen un W en 103.
 El grupo GLEW también contiene secuencias similares a GLEW en las posiciones 44-47, tales como
 por ejemplo GVEW, EPEW, GLER, DQEW, DLEW, GIEW, ELEW, GPEW, EWLP, GPER, GLER y
 ELEW.

Por lo tanto, en general, un ISVD de Nanobody® puede definirse como una secuencia de
 10 aminoácidos con la estructura (general)

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4

en donde FR1 a FR4 se refieren a las regiones marco 1 a 4, respectivamente, y en la que de CDR1
 a CDR3 se refieren a las regiones determinantes de la complementariedad 1 a 3, respectivamente, y en la
 que uno o más de los residuos de aminoácidos en las posiciones 11, 37, 44, 45, 47, 83, 84, 103, 104 y 108
 15 de acuerdo con la numeración Kabat se seleccionan entre los residuos característicos mencionados en la
 Tabla 2.

En una realización, el ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención
 deriva de un ISVD, tal como de un ISVD de cadena pesada, preferiblemente de un ISVD de Nanobody®,
 que se ha sometido a ingeniería genética/modificado adicionalmente para incluir mutaciones que
 20 previenen/eliminan la unión de anticuerpos/factores preexistentes. Se describen ejemplos de dichas
 mutaciones, por ejemplo, en los documentos WO 2012/175741 y WO 2015/173325. Por ejemplo, para
 prevenir/eliminar la unión de anticuerpos/factores preexistentes, el aminoácido en la posición 11 (de
 acuerdo con Kabat) puede ser Val o Leu, preferiblemente Val; y/o el aminoácido en la posición 89 (de
 acuerdo con Kabat) puede ser preferiblemente Val, Thr o Leu, preferiblemente Leu; y/o el aminoácido en
 25 la posición 110 (de acuerdo con Kabat) puede ser preferiblemente Thr, Lys o Gln, preferiblemente Thr; y/o
 el aminoácido en la posición 112 (de acuerdo con Kabat) puede ser Ser, Lys o Gln, preferiblemente Ser;
 y/o el componente esencial basado en ISVD puede contener una extensión C-terminal de 1-5 aminoácidos
 seleccionados de cualquier aminoácido natural.

Por tanto, en una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención
 30 comprenden:

- a) al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente
 a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1
 de tipo salvaje por la unión a FcRn; y
- b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión
 35 a FcRn.

En una realización preferida, el al menos un ISVD que se une específicamente al epítipo en FcRn
 comprendido como el primer polipéptido en los antagonistas de FcRn de la presente invención no compite
 con la albúmina sérica humana (HSA) de tipo salvaje por la unión a FcRn y/o no es un antagonista de FcRn

por sí solo. Por lo tanto, en esta realización específica, el antagonista de FcRn de la presente invención es un antagonista porque el al menos un segundo polipéptido (b) es un antagonista de FcRn tanto por sí solo como en conexión con el al menos un primer polipéptido (es decir, el segundo polipéptido (b) compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn).

5 En algunas realizaciones, el ISVD es un anticuerpo de dominio (único), un V_{HH} de Nanobody®, un V_{HH} , un V_{HH} humanizado o un V_H camelizado, preferiblemente un Nanobody®.

En otra realización preferida, el epítipo de FcRn al que se une el ISVD comprendido como el primer polipéptido (a) en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende al menos uno de los siguientes residuos de aminoácidos 1A, 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T,
10 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 204Y, 205P, 206P, 207E, 208L, 209Q, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y/o 262P, estando numerados los residuos de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.

En realizaciones particulares, el epítipo como se describe en el presente documento es un epítipo lineal, que comprende un tramo de residuos de aminoácidos continuos de la secuencia primaria del FcRn. En realizaciones particulares, el epítipo como se describe en el presente documento es un epítipo
15 conformacional, que comprende al menos dos residuos de aminoácidos discontinuos y/o tramos de residuos de aminoácidos de la secuencia primaria de FcRn que están cerca uno del otro en la estructura terciaria de FcRn y que forman una superficie de unión específica con una estructura tridimensional para los polipéptidos de la presente invención.

Normalmente, las unidades de unión utilizadas en la presente tecnología (tales como el ISVD
20 comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido) se unirán a sus dianas con una constante de disociación (K_D) de 10^{-5} a 10^{-12} mol/litro o menos, preferiblemente de 10^{-7} a 10^{-12} mol/litro o menos y, más preferiblemente, de 10^{-8} a 10^{-12} mol/litro (es decir, con una constante de asociación (K_A) de 10^5 a 10^{12} litro/mol o más, preferiblemente de 10^7 a 10^{12} litro/mol o más y, más preferiblemente, de 10^8 a 10^{12} litro/mol). Cualquier valor de K_D superior a 10^{-4} mol/litro (o cualquier valor de
25 K_A inferior a 10^4 litro/mol) se considera generalmente indicativo de unión inespecífica. Las K_D para interacciones biológicas, tales como la unión de secuencias de inmunoglobulina a un antígeno, que se consideran específicas suelen estar en el intervalo de 10^{-5} mol/litro (10000 nM o 10 μ M) a 10^{-12} mol/litro (0.001 nM o 1 pM) o menos. En consecuencia, la unión específica/selectiva puede significar que, utilizando el mismo método de medición, por ejemplo, SPR, una unidad de unión (o polipéptido que la comprende)
30 se une a FcRn con un valor de K_D de 10^{-5} to 10^{-12} mol/litro o menos y se une a dianas relacionadas con un valor de K_D superior a 10^{-4} mol/litro. Por lo tanto, el ISVD comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido en esta realización específica presenta preferiblemente al menos la mitad de la afinidad de unión, más preferiblemente al menos la misma afinidad de unión, al FcRn humano en comparación con un ISVD que consiste en los aminoácidos de las SEQ ID NO: 14 o 15, o de
35 SEQ ID NO: 185, o de SEQ ID NO: 186 o 187, en donde la afinidad de unión se mide utilizando el mismo método, tal como SPR. La unión específica a una diana determinada de una especie determinada no excluye que la unidad de unión también pueda unirse específicamente a la diana análoga de una especie

diferente. Por ejemplo, la unión específica al FcRn humano no excluye que la unidad de unión (o un polipéptido que la comprende) también pueda unirse específicamente al FcRn de monos cynomolgus.

La unión específica de una unidad de unión a su diana designada puede determinarse de cualquier manera adecuada en sí misma conocida, incluyendo, por ejemplo, análisis de Scatchard y/o ensayos de unión competitiva, tales como radioinmunoensayos (RIA), enzoinmunoensayos (EIA) y ensayos competitivos tipo sándwich, y las diferentes variantes de los mismos en sí mismas conocidas en la técnica; así como las demás técnicas mencionadas en el presente documento. La constante de disociación puede ser la constante de disociación real o aparente, como será evidente para el experto. Los procedimientos para determinar la constante de disociación serán evidentes para el experto y, por ejemplo, incluyen las técnicas mencionadas a continuación. A este respecto, también quedará claro que puede no ser posible medir constantes de disociación de más de 10^{-4} mol/litro o 10^{-3} mol/litro (p. ej., de 10^{-2} mol/litro). Opcionalmente, como también será evidente para el experto, la constante de disociación (real o aparente) puede calcularse a partir de la constante de asociación (real o aparente) (K_A), mediante la relación [$K_D = 1/K_A$]. La afinidad de una interacción molecular entre dos moléculas puede medirse mediante diferentes técnicas en sí mismas conocidas, tales como la conocida técnica de biosensor de resonancia de plasmón superficial (SPR) (véase, por ejemplo, Ober *et al.* 2001, Intern. Immunology 13: 30 1551-1559). La expresión "resonancia de plasmón superficial", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real mediante la detección de alteraciones en las concentraciones de proteínas dentro de una matriz de biosensor, donde una molécula se inmoviliza en el chip biosensor y la otra molécula se hace pasar sobre la molécula inmovilizada en condiciones de flujo, produciendo mediciones de k_{on} , k_{off} y, por lo tanto, valores de K_D (o K_A). Esto puede realizarse, por ejemplo, utilizando el conocido sistema BIAcore® (BIAcore International AB, una empresa de GE Healthcare, Uppsala, Suecia y Piscataway, NJ). Para descripciones adicionales, véase Jonsson *et al.* (1993, Ann. Biol. Clin. 51: 19-26), Jonsson *et al.* (1991 Biotechniques 11: 620-627), Johnsson *et al.* (1995, J. Mol. Recognit. 8: 125- 131) y Johnson *et al.* (1991, Anal. Biochem. 198: 268-277). Otra técnica de biosensores bien conocida para determinar afinidades de interacciones biomoleculares es la interferometría de biocapas (BLI) (véase, por ejemplo, Abdiche *et al.* 2008, Anal. Biochem. 377: 209-217). La expresión "interferometría de biocapa" o "BLI", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a una técnica óptica sin marcadores que analiza el patrón de interferencia de la luz reflejada desde dos superficies: una capa de referencia interna (haz de referencia) y una capa de proteína inmovilizada en la punta del biosensor (haz de señal). Un cambio en el número de moléculas unidas a la punta del biosensor provoca un cambio en el patrón de interferencia, que se notifica como un cambio de longitud de onda (nm), cuya magnitud es una medida directa del número de moléculas unidas a la superficie de la punta del biosensor. Dado que las interacciones pueden medirse en tiempo real, pueden determinarse las tasas de asociación y disociación y las afinidades. BLI puede realizarse, por ejemplo, utilizando los® sistemas Octet bien conocidos (ForteBio, Una división de Pall Life Sciences, Menlo Park, EE.UU.). Como alternativa, las afinidades pueden medirse en un ensayo cinético de exclusión (KinExA) (véase, por ejemplo, Drake *et al.* 2004, Anal. Biochem., 328: 35-43) utilizando la plataforma KinExA® (Sapidyne Instruments Inc, Boise,

Estados Unidos). El término "KinExA", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un método basado en soluciones para medir la verdadera afinidad de unión en equilibrio y la cinética de moléculas no modificadas. Las soluciones equilibradas de un complejo anticuerpo/antígeno se hacen pasar por una columna con perlas recubiertas previamente con antígeno (o anticuerpo), permitiendo que el anticuerpo (o antígeno) libre se una a la molécula aplicada como recubrimiento. La detección del anticuerpo (o antígeno) así capturado se realiza con una proteína marcada con fluorescencia que se une al anticuerpo (o antígeno). El sistema de inmunoensayo GYROLAB® proporciona una plataforma para el bioanálisis automatizado y la rápida entrega de muestras (Fraley *et al.*, 2013, *Bioanalysis* 5: 1765-74).

En otra realización, el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), comprende al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- i) 4H y 5L, y/o
- ii) 98L, 99G, 100P, 101D y 102N, y/o
- iii) 167L, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
- iv) 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A y 262P,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), comprende al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- i) 2E, 3S, 4H y 5L, y/o
- ii) 97E, 98L, 99G, 100P, 101D y 102N, y/o
- iii) 98L, 99G, 100P, 101D, 102N y 103T, y/o
- iv) 167L, 168E, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
- v) 205P, 206P y 207E, y/o
- vi) 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y 262P,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), comprende al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- i) 1A, 2E, 3S, 4H y 5L, y/o
- ii) 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
- iii) 204Y, 205P, 206P y 230E, y/o
- iv) 205P, 206P, 207E y 208L,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), comprende al menos los siguientes residuos de aminoácidos 4H, 5L, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 167L, 171R, 174L, 175E, 177K,

207E, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), comprende al menos los
5 siguientes residuos de aminoácidos 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 205P, 206P, 207E, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), comprende al menos los
10 siguientes residuos de aminoácidos 1A, 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 204Y, 205P, 206P, 207E, 208L, 209Q, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q, y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente
15 invención como el primer polipéptido (a) se une específicamente al epítipo de FcRn de una manera dependiente del pH, de manera que la afinidad de unión a un pH endosómico ácido, tal como un pH entre 5.0 y 6.8, es al menos tres veces mayor que la afinidad de unión a un pH fisiológico extracelular, tal como un pH de aproximadamente 7.4.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente
20 invención como el primer polipéptido (a) se une específicamente a residuos de aminoácidos en FcRn que no están implicados en la unión de FcRn a la albúmina sérica y/o que no están implicados en la unión de FcRn a la IgG. Por lo tanto, en esta realización específica, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) se une específicamente a un epítipo en FcRn caracterizado por el hecho de que es diferente del epítipo en FcRn contra el cual se dirige
25 la albúmina sérica y/o la IgG.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

30 CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 [= X₁ X₂ X₃ M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 [=X_a X_b X_c F X_e X₁ X₂ X₃ M Y], en donde

X_a es A, D, E, F, G, H, K, L, M, N, Q, S, T, W o Y,

X_b es F, I, L, M, V o Y,

35 X_c es A, E, G, I, L, M, N, P, S, T, V, W o Y,

X_e es D, E, G, K, M, N, P, Q, S o T,

X₁ es A, D, E, G, K, N, Q, S, T o V,

X₂ es A, F, L, M, N, Q, S, T, V o Y, y

X_3 es A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V,

y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 [= A I X_3 X_4 G G X_8 X_9 X_{10} Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ

5 ID NO: 6 [=A I X_3 X_4 G G G X_8 X_9 X_{10}], en donde

X_3 es A, D, E, G, H, P, Q, R, S, T o V,

X_4 es A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y,

X_8 es A, D, G, H, K, L, M, Q, S, T o V,

X_9 es A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, y

10 X_{10} es A, D, E, H, S, T, V o Y,

y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 [= D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12}] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

7 [= D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12}], en donde

15 X_2 es A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, T, V, W o Y,

X_3 es L o N,

X_4 es F, L, W o Y,

X_6 es A, D, E, K, L, M, Q, S o W,

X_7 es L, M o V,

20 X_9 es A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y,

X_{11} es A, E, L, M, Q, S, T, V o W, y

X_{12} es T o Y,

siempre que los aminoácidos

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_6 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y D, respectivamente,

25 o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_6 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D y D, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y K, respectivamente,

o

30 X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D y K, respectivamente, o

X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y K, respectivamente,

o

35 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q, D y K, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q, D, y K, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, Q, D y K, respectivamente, o

X_a y X_1 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, Q, D y K, respectivamente, o

5 X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_6 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D y D, respectivamente, o
 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_6 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y D, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3 y X_6 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q y D, respectivamente, o

10 X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6 y X_6 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q y D, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y K, respectivamente, o

15 X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, Q, D y K, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q y K, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q y K, respectivamente, o

20 X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, y S, respectivamente, o
 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y S, respectivamente, o

25 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, D y S, respectivamente, o

X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D y K, respectivamente, o

X_a de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y K, respectivamente, o

30 X_1 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, Q, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, Q, D y S, respectivamente, o

35 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D, Q, D y S, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, Q, D y S, respectivamente, o

X_a y X_1 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, Q, D y S, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y K, respectivamente, o

5 X_a y X_1 de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y K, respectivamente, o

10 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D, D y K, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y S, respectivamente, o,

15 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q, D y S, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q, D, y S, respectivamente, o

20 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q, D y K, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, D y S, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y S, respectivamente, o

25 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D, D y S, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y S, respectivamente, o

30 X_4 de SEQ ID NO: 3 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente Q y S, respectivamente OR X_a de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, Q y S, respectivamente.

35 En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 [= X_1 X_2 X_3 M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 [= X_a X_b X_c F X_e X_1 X_2 X_3 M Y], en donde

X_a es G o T,

X_b es F,

X_c es T,

X_e es S,

5 X_1 es S, D o E,

X_2 es Y, y

X_3 es A o D,

y

10 CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 [= A I X_3 X_4 G G G X_8 X_9 X_{10} Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 [=A I X_3 X_4 G G G X_8 X_9 X_{10}], en donde

X_3 es S,

X_4 es Q o S,

X_8 es S,

15 X_9 es T, y

X_{10} es D,

y

20 CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 [= D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12}] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 [= D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12}], en donde

X_2 es T,

X_3 es L,

X_4 es Y,

X_6 es D, E o S,

25 X_7 es L,

X_9 es K, R, S o W,

X_{11} es S, y

X_{12} es Y,

siempre que los aminoácidos

30 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_6 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y D, respectivamente,

o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_6 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D y D, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y K, respectivamente,

35 o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D y K, respectivamente, o

X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y K, respectivamente,
o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q, D y K, respectivamente, o

5 X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q, D, y K, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, Q, D y K, respectivamente, o

10 X_a y X_1 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, Q, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_6 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D y D, respectivamente, o

X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_6 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y D, respectivamente,
o

15 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3 y X_6 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q y D, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6 y X_6 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q y D, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y K, respectivamente, o

20 X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, Q, D y K, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q y K, respectivamente, o

25 X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, y S, respectivamente, o

30 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y S, respectivamente,
o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, D y S, respectivamente, o

X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D y K, respectivamente, o

35 X_a de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D y K, respectivamente, o

X_1 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, Q, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, Q, D y S, respectivamente, o

X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D, Q, D y S, respectivamente, o

5 X_1 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, Q, D y S, respectivamente, o

X_a y X_1 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, Q, D y S, respectivamente, o

10 X_1 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y K, respectivamente, o

X_a y X_1 de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D y K, respectivamente, o

X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y K, respectivamente, o

15 X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D, D y K, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, D y K, respectivamente, o

20 X_3 de SEQ ID NO: 2, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y S, respectivamente, o,

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q, D y S, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, Q, D, y S, respectivamente, o

25 X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2, X_4 de SEQ ID NO: 3, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D, Q, D y K, respectivamente, o

X_a , X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 5, y X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, E, D, D y S, respectivamente, o

30 X_3 de SEQ ID NO: 2, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, D y S, respectivamente, o

X_a y X_3 de SEQ ID NO: 5, X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, D, D y S, respectivamente, o

X_1 y X_3 de SEQ ID NO: 2 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente E, D y S, respectivamente, o

35 X_4 de SEQ ID NO: 3 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente Q y S, respectivamente OR X_a de SEQ ID NO: 5, X_4 de SEQ ID NO: 6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente T, Q y S, respectivamente.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 [= X₁ X₂ X₃ M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 [=X_a X_b X_c F X_e X₁ X₂ X₃ M Y], en donde

X_a es A, D, E, F, G, H, K, L, M, N, Q, S, T, W o Y,

X_b es F, I, L, M, V o Y,

X_c es A, E, G, I, L, M, N, P, S, T, V, W o Y,

X_e es D, E, G, K, M, N, P, Q, S o T,

X₁ es A, D, E, G, K, N, Q, S, T o V,

X₂ es A, F, L, M, N, Q, S, T, V o Y, y

X₃ es A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V,

y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D],

y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn que comprenden al menos un ISVD que se une específicamente al epítipo en FcRn como se divulga en el presente documento, en donde al menos un ISVD consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y]

y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 [= A I X₃ X₄ G G G X₈ X₉ X₁₀ Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 [=A I X₃ X₄ G G G X₈ X₉ X₁₀], en donde

X₃ es A, D, E, G, H, P, Q, R, S, T o V,

X₄ es A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y,

X₈ es A, D, G, H, K, L, M, Q, S, T o V,

X₉ es A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, y

X_{10} es A, D, E, H, S, T, V o Y,

y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y]

y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D],

y

La CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 [= D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12}] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7[= D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12}], en donde

X_2 es A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, T, V, W o Y,

X_3 es L o N,

X_4 es F, L, W o Y,

X_6 es A, D, E, K, L, M, Q, S o W,

X_7 es L, M o V,

X_9 es A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y,

X_{11} es A, E, L, M, Q, S, T, V o W, y

X_{12} es T o Y,

siempre que los aminoácidos X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, y K, respectivamente, o X_6 y X_9 de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente D y K, respectivamente.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 [= X_1 X_2 X_3 M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 [= X_a X_b X_c F X_e X_1 X_2 X_3 M Y], en donde

X_a es G o T,

X_1 es S, D o E,

X_2 es Y, y

X_3 es A o D,

y

5 CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D],

y

10 CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el
15 hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y]

y

20 CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 [= A I X_3 X_4 G G X_8 X_9 X_{10} Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 [=A I X_3 X_4 G G G X_8 X_9 X_{10}], en donde

X_3 es S,

X_4 es Q o S,

25 X_8 es S,

X_9 es T, y

X_{10} es D,

y

30 CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el
35 hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y]

y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D],

5 y

La CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 [= D X₂ X₃ X₄ T X₆ X₇ T X₉ Y X₁₁ X₁₂] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7[= D X₂ X₃ X₄ T X₆ X₇ T X₉ Y X₁₁ X₁₂], en donde

X₂ es T,

10 X₃ es L,

X₄ es Y,

X₆ es D, E o S,

X₇ es L,

X₉ es K, R, S o W,

15 X₁₁ es S, y

X₁₂ es Y,

siempre que los aminoácidos X₆ y X₉ de SEQ ID NO: 4 no sean simultáneamente D, y K, respectivamente, o X₆ y X₉ de SEQ ID NO: 7 no sean simultáneamente D y K, respectivamente.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y], en donde

S en la posición 1 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 6 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a A, D, E, G, K, N, Q, T o V, y/o

Y en la posición 2 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 7 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a A, F, L, M, N, Q, S, T o V, y/o

30 A en la posición 3 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 8 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D], y

35 CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

5 CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y]

y

10 CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D], en donde

S en la posición 3 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 3 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a A, D, E, G, H, P, Q, R, T o V, y/o

15 S en la posición 4 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 4 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, T, V, W o Y y/o

S en la posición 8 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 8 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a A, D, G, H, K, L, M, Q, T o V, y/o

T en la posición 9 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 9 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, V, W o Y y/o

20 D en la posición 10 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 10 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a A, E, H, S, T, V, o Y, y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

25 En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

30 CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y]

y

35 CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D]

y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y], en donde

T en la posición 2 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 2 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, V, W o Y y/o

L en la posición 3 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 3 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a N, y/o

Y en la posición 4 de la SEQ ID NO: 10 o en la posición 4 de la SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a F, L o W y/o

S en la posición 6 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 6 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a A, D, E, K, L, M, Q o W, y/o

L en la posición 7 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 7 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a M, o V, y/o

S en la posición 9 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 9 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, T, V, W o Y, y/o

S en la posición 11 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 11 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a A, E, L, M, Q, T, V o W, y/o

Y en la posición 12 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 12 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a T, siempre que los aminoácidos en las posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 10 o en las posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 13 no se cambien simultáneamente a D y K, respectivamente.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y], en donde

S en la posición 1 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 6 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a D o E, y/o

A en la posición 3 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 8 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a D, y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D], en donde

S en la posición 4 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 4 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a Q, y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y], en donde

S en la posición 6 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 6 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a D, o E, y/o

S en la posición 9 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 9 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a K, R o W,

siempre que los aminoácidos en las posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 10 o en las posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 13 no se cambien simultáneamente a D y K, respectivamente.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que: CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y], en donde

S en la posición 1 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 6 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a D o E, y/o

A en la posición 3 de SEQ ID NO: 8 o en la posición 8 de SEQ ID NO: 11 se ha cambiado a D, y CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D], y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que: CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y], y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D], en donde

S en la posición 4 de SEQ ID NO: 9 o en la posición 4 de SEQ ID NO: 12 se ha cambiado a Q, y CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y].

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que: CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y

A M Y] o CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y],

y

CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] o CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D], y

CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] o CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y], en donde

S en la posición 6 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 6 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a D, o E, y/o

S en la posición 9 de SEQ ID NO: 10 o en la posición 9 de SEQ ID NO: 13 se ha cambiado a K, R o W,

siempre que los aminoácidos en las posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 10 o en las posiciones 6 y 9 de SEQ ID NO: 13 no se cambien simultáneamente a D y K, respectivamente.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), y se caracteriza por el hecho de que:

a) CDR1 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 [= S Y A M Y] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 “diferencia(s) de aminoácidos” (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 8; y

b) CDR2 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 [= A I S S G G G S T D Y A D S V K G] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 “diferencia(s) de aminoácidos” (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 9; y

c) CDR3 (de acuerdo con Kabat) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 [= D T L Y T S L T S Y S Y] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 “diferencia(s) de aminoácidos” (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 10.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente) y se caracteriza por el hecho de que:

a) CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 “diferencia(s) de aminoácidos” (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 11; y

b) CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 “diferencia(s) de aminoácidos” (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 12; y

c) CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y], y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 “diferencia(s) de aminoácidos” (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 13.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 185.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) tiene al menos un 80 %, tal como un 90 %, o incluso un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 185.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) tiene la secuencia de la SEQ ID NO: 186 or SEQ ID NO: 187.

En otra realización, el al menos un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) tiene al menos un 80 %, tal como un 90 %, o incluso un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 185, SEQ ID NO: 186 or SEQ ID NO: 187.

En realizaciones particulares, los polipéptidos como se describen en el presente documento que comprenden el ISVD con la una o más CDR con 1, 2, 3 o 4 diferencia(s) de aminoácido(s) se unen a FcRn con aproximadamente la misma afinidad en comparación con la unión mediante la secuencia de aminoácidos o polipéptido que comprende las CDR sin las 4, 3, 2 o 1 diferencia de aminoácido(s), midiéndose dicha afinidad mediante resonancia de plasmón superficial.

En comparación con la secuencia de SEQ ID NO: 14, 15 y/o 185, el ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la invención como el primer polipéptido (a) preferiblemente también contiene (al menos): una o más sustituciones de humanización; y/o una o más mutaciones (es decir, sustituciones, eliminaciones o adiciones de aminoácidos y, en particular, sustituciones) que reducen la unión por anticuerpos preexistentes; y puede contener opcionalmente una o más mutaciones adicionales (por ejemplo, para mejorar la estabilidad química del antagonista de FcRn) como se describe en el presente documento.

En comparación con la secuencia de SEQ ID NO: 186 y/o 187, el ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la invención como el primer polipéptido (a) preferiblemente también contiene (al menos): una o más sustituciones de humanización; y/o una o más mutaciones (es decir, sustituciones, eliminaciones o adiciones de aminoácidos y, en particular, sustituciones) que reducen la unión por anticuerpos preexistentes; y puede contener opcionalmente una o más mutaciones adicionales (por ejemplo, para mejorar la estabilidad química del antagonista de FcRn) como se describe en el presente documento.

Para sustituciones de humanización adecuadas (y combinaciones adecuadas de las mismas), se hace referencia, por ejemplo, a los documentos WO 09/138519 (o en la técnica anterior mencionada en el documento WO 09/138519) y WO 08/020079 (o en la técnica anterior mencionada en el documento WO 08/020079), así como las Tablas A-3 a A-8 del documento WO 08/020079 (que son listas que muestran posibles sustituciones de humanización). Algunos ejemplos preferidos pero no limitantes de tales sustituciones de humanización son Q108L y A14P o una combinación adecuada de las mismas. Dichas sustituciones de humanización también pueden combinarse adecuadamente con una o más mutaciones distintas como se describe en el presente documento (tal como con una o más mutaciones que reducen la unión por anticuerpos preexistentes).

Para mutaciones adecuadas que pueden reducir la unión por anticuerpos preexistentes (y combinaciones adecuadas de tales mutaciones), se hace referencia, por ejemplo, a los documentos WO 2012/175741 y WO 2015/173325 y también, por ejemplo, a los documentos WO 2013/024059 y WO 2016/118733.

Se contemplan modificaciones de la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos o ISVD descritos en el presente documento. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas de los polipéptidos o ISVD. Las variantes de secuencia de aminoácidos de los polipéptidos o ISVD como se describen en el presente documento se preparan introduciendo cambios de nucleótidos apropiados en el ácido nucleico que codifica los polipéptidos o ISVD, o mediante síntesis de péptidos.

Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, eliminaciones y/o inserciones y/o sustituciones de residuos dentro de los polipéptidos o ISVD como se describe en el presente documento. Se realiza cualquier combinación de eliminación, inserción y sustitución para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos postraduccionales de las moléculas de unión, tales como cambiar el número o la posición de los sitios de glicosilación. Preferiblemente, se pueden sustituir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 aminoácidos en una CDR, mientras que se pueden sustituir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 25 aminoácidos en las regiones marco (FR). Las sustituciones son preferiblemente sustituciones conservadoras como se describe en el presente documento. Adicional o alternativamente, se pueden insertar o eliminar 1, 2, 3, 4, 5 o 6 aminoácidos en cada una de las CDR (por supuesto, dependiendo de su longitud), mientras que se pueden insertar o eliminar 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o 25 aminoácidos en cada una de las FR.

Un método útil para la identificación de ciertos residuos o regiones de polipéptidos o ISVD como se describe en el presente documento, que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis, se denomina "mutagénesis de barrido de alanina" como se describe por Cunningham y Wells 1989 (Science 244: 1081-1085). Aquí, se identifica un residuo o grupo de residuos diana dentro de la molécula de unión (por ejemplo, residuos cargados tales como Arg, Asp, His, Lys y Glu) y se reemplaza por un aminoácido neutro o cargado negativamente (más preferiblemente alanina o polialanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el epítipo. A continuación, las ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a

las sustituciones se refinan introduciendo variantes adicionales u otras variantes en o para los sitios de sustitución. Por tanto, aunque el sitio para introducir una variación de la secuencia de aminoácidos está predeterminado, no es necesario predeterminar la naturaleza de la mutación en sí misma. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio determinado, se realiza un barrido de alanina o mutagénesis aleatoria en un codón o región diana y las variantes de la molécula de unión expresadas se criban con respecto a la actividad deseada.

Preferiblemente, las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones amino y/o carboxilo terminales que varían en longitud desde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos hasta polipéptidos que contienen cien o más residuos.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen preferiblemente (al menos) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos de aminoácidos en las secuencias de aminoácidos, ISVD o polipéptidos reemplazados por un residuo diferente. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis por sustitución incluyen las CDR, en particular las regiones hipervariables, pero también se contemplan alteraciones de las FR. Por ejemplo, si una secuencia CDR abarca 6 aminoácidos, se prevé que uno, dos o tres de estos aminoácidos estén sustituidos. De manera similar, si una secuencia CDR abarca 15 aminoácidos, se prevé que uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis de estos aminoácidos estén sustituidos.

Generalmente, si los aminoácidos están sustituidos en una o más o todas las CDR, se prefiere que la secuencia "sustituida" obtenida entonces sea al menos el 60 %, más preferiblemente el 65 %, incluso más preferiblemente el 70 %, particularmente preferiblemente el 75 %, más particularmente preferiblemente el 80 % o incluso más del 90 % idéntica a la secuencia CDR "original". Esto significa que depende de la longitud de la CDR hasta qué punto es idéntica a la secuencia "sustituida". Por ejemplo, una CDR que tiene 5 aminoácidos es preferiblemente idéntica en un 80 % a su secuencia sustituida para tener al menos un aminoácido sustituido. Por consiguiente, las CDR de las secuencias de aminoácidos, ISVD o polipéptidos pueden tener diferentes grados de identidad con sus secuencias sustituidas, por ejemplo, la CDR1 puede tener un 80 %, mientras que la CDR3 puede tener un 90 %.

Las sustituciones de aminoácidos preferidas son sustituciones conservadoras. Dichas sustituciones conservadoras preferiblemente son sustituciones en las que un aminoácido dentro de los siguientes grupos (a) – (e) se sustituye por otro residuo de aminoácido dentro del mismo grupo: (a) pequeños residuos alifáticos, no polares o ligeramente polares: Ala, Ser, Thr, Pro y Gly; (b) residuos polares con carga negativa y sus amidas (sin carga): Asp, Asn, Glu y Gln; (c) residuos polares, cargados positivamente: His, Arg y Lys; (d) grandes residuos alifáticos, no polares: Met, Leu, Ile, Val y Cys; y (e) residuos aromáticos: Phe, Tyr y Trp. Otras sustituciones conservadoras preferidas son las siguientes: Ala por Gly o por Ser; Arg por Lys; Asn por Gln o por His; Asp por Glu; Cys por Ser; Gln por Asn; Glu por Asp; Gly por Ala o por Pro; His por Asn o por Gln; Ile por Leu o por Val; Leu por Ile o por Val; Lys por Arg, por Gln o por Glu; Met por Leu, por Tyr o por Ile; Phe por Met, por Leu o por Tyr; Ser por Thr; Thr por Ser; Trp por Tyr; Tyr por Trp; y/o Phe por Val, por Ile o por Leu. Sin embargo, se prevé cualquier sustitución (incluida una sustitución no conservadora) siempre que el polipéptido conserve su capacidad para unirse

específicamente al epítipo en FcRn como se describe en el presente documento, unirse específicamente a FcRn a pH ácido (tal como pH de 5.0 a 6.8) con una afinidad como se describe en el presente documento (por ejemplo, con un valor de K_D entre 10^{-6} y 10^{-11} M) y/o sus CDR tienen una identidad de al menos el 60 %, más preferiblemente el 65 %, incluso más preferiblemente 70 %, particularmente preferiblemente 75 %, más particularmente preferiblemente 80 % respecto a la secuencia CDR "original".

Las secuencias CDR preferidas comprendidas en los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a) se representan como SEQ ID NO 8 a 13 y 67 a 68 en la Tabla 3. El análisis de secuencia reveló además que hay una serie de posibles variaciones de secuencia en las CDR (véanse las SEQ ID NO 2 a 7 en la Tabla 3).

Tabla 3: ID de secuencia de ISVD y secuencias CDR preferidas

ID de Nanobody®	ISVD de	SEQ ID NO.	Secuencia
T0263018B11-precursor		14	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQA PGKGLEWWSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTWYSYWGQGTLVTVSS
T0263018B11-W100cS		15	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQA PGKGLEWWSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGTLVTVSS
T0263018B11-precursor/W100cS/(Y7 9S,T100bE,W100cS) (CDR1 – AbM)		11	GFTFSSYAMY
T0263018B11-precursor/W100cS/(Y7 9S,T100bE,W100cS) (CDR2 – AbM)		12	AISSGGGSTD
T0263018B11-precursor (CDR3 – AbM)		68	DTLYTSLTWYSY
T0263018B11-W100cS (CDR3 – AbM)		13	DTLYTSLTSYSY
T0263018B11-precursor/W100cS/(Y7 9S,T100bE,W100cS) (CDR1 – Kabat)		8	SYAMY
T0263018B11-precursor/W100cS/(Y7		9	AISSGGGSTDYADSVKG

	9S,T100bE,W100cS) (CDR2 – Kabat)		
5	T0263018B11- precursor (CDR3 – Kabat)	67	DTLYTSLTWYSY
	T0263018B11- W100cS (CDR3 – Kabat)	10	DTLYTSLTSYSY
10	CDR1 (secuencia variable -Kabat)	2	X ₁ X ₂ X ₃ M Y, en donde X ₁ es A, D, E, G, K, N, Q, S, T o V, X ₂ es A, F, L, M, N, Q, S, T, V o Y, y X ₃ es A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V
15	CDR2 (secuencia variable -Kabat)	3	A I X ₃ X ₄ G G G X ₈ X ₉ X ₁₀ Y A D S V K G, en donde X ₃ es A, D, E, G, H, P, Q, R, S, T o V, X ₄ es A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, X ₈ es A, D, G, H, K, L, M, Q, S, T o V, X ₉ es A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, y X ₁₀ es A, D, E, H, S, T, V o Y,
20	CDR3 (secuencia variable -Kabat)	4	D X ₂ X ₃ X ₄ T X ₆ X ₇ T X ₉ Y X ₁₁ X ₁₂ , en donde X ₂ es A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, T, V, W o Y, X ₃ es L o N, X ₄ es F, L, W o Y, X ₆ es A, D, E, K, L, M, Q, S o W, X ₇ es L, M o V, X ₉ es A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y, X ₁₁ es A, E, L, M, Q, S, T, V o W, y X ₁₂ es T o Y
25			
30	CDR1 (secuencia variable - AbM)	5	X _a X _b X _c F X _e X ₁ X ₂ X ₃ M Y, en donde X _a es A, D, E, F, G, H, K, L, M, N, Q, S, T, W o Y, X _b es F, I, L, M, V o Y, X _c es A, E, G, I, L, M, N, P, S, T, V, W o Y, X _e es D, E, G, K, M, N, P, Q, S o T, X ₁ es A, D, E, G, K, N, Q, S, T o V, X ₂ es A, F, L, M, N, Q, S, T, V o Y, y X ₃ es A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V
35	CDR2 (secuencia variable - AbM)	6	A I X ₃ X ₄ G G G X ₈ X ₉ X ₁₀ , en donde X ₃ es A, D, E, G, H, P, Q, R, S, T o V, X ₄ es A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y,

			X_8 es A, D, G, H, K, L, M, Q, S, T o V, X_9 es A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, y X_{10} es A, D, E, H, S, T, V o Y
5	CDR3 (secuencia variable - AbM)	7	D X_2 X_3 X_4 T X_6 X_7 T X_9 Y X_{11} X_{12} , en donde X_2 es A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, T, V, W o Y, X_3 es L o N, X_4 es F, L, W o Y, X_6 es A, D, E, K, L, M, Q, S o W, X_7 es L, M o V, X_9 es A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y, X_{11} es A, E, L, M, Q, S, T, V o W, y X_{12} es T o Y
10			
15	T0263018B11 (E1D,W100cS)	185	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQA PGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRPEDTALYYCAADTLTSLTSYSYWGQGTLVTVSS
	T0263018B11 (Y79S,T100bE,W100cS)	186	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQA PGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLSLQ MNSLRPEDTALYYCAADTLTSLTSYSYWGQGTLVTVSS
20	T0263018B11 (E1D,Y79S,T100bE,W100cS)	187	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQA PGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLSLQ MNSLRPEDTALYYCAADTLTSLTSYSYWGQGTLVTVSS
	T0263018B11 (Y79S,T100bE,W100cS) (CDR3 – AbM)	189	DTLYTSLESYSY
25	T0263018B11 (Y79S,T100bE,W100cS) (CDR3 – Kabat)	189	DTLYTSLESYSY

Los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn como polipéptido (a) se unen a un epítipo único específico en FcRn, que es un epítipo que es diferente de los epítopos presentes en FcRn unidos por los ligandos naturales de FcRn, es decir, IgG.

Como se indicó anteriormente, en algunas realizaciones los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) son tales que cuando estos se unen o asocian de otro modo con una molécula de FcRn, la unión de la molécula de FcRn a IgG no se ve (significativamente) afectada, reducida o inhibida (es decir, el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn).

Por lo tanto, en algunas realizaciones, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente a residuos de aminoácidos en FcRn que no están implicados en la unión de FcRn a la albúmina sérica y/o a la IgG. La implicación de un residuo de

aminoácido en FcRn en la unión a al menos un ISVD, a la seroalbúmina y/o a IgG se puede determinar, por ejemplo, determinando la interacción del residuo de aminoácido en FcRn con un residuo de aminoácido en el al menos un ISVD, con un residuo de aminoácido en la seroalbúmina y/o con un residuo de aminoácido en la IgG, p. ej., mediante estudios cristalográficos. En esta realización particular, los antagonistas de FcRn comprenden al menos un ISVD como el primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn que comprende residuos de aminoácidos que no están comprendidos en el epítipo de FcRn al que se une la albúmina sérica y/o en el epítipo de FcRn al que se une la IgG. En esta realización particular, los antagonistas de FcRn comprenden al menos un ISVD que se une específicamente a residuos de aminoácidos en FcRn a los que no se une la albúmina sérica ni/o la IgG.

En otras realizaciones, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) también son preferiblemente tales que compiten con el polipéptido con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y/o 15 por la unión a FcRn y/o que "bloquean de forma cruzada" (como se define en el presente documento) la unión del polipéptido con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y/o 15 a FcRn.

En otras realizaciones, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) también son preferiblemente tales que compiten con el polipéptido con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 186 y/o 187 por la unión a FcRn y/o que "bloquean de forma cruzada" (como se define en el presente documento) la unión del polipéptido con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 186 y/o 187 a FcRn.

Las expresiones "**bloqueo cruzado**" y "**bloqueo de forma cruzada**" se usan indistintamente en el presente documento para referirse a la capacidad de un dominio variable único de inmunoglobulina o polipéptido para interferir con la unión de un ligando a su diana, tal como un ligando natural a su(s) receptor(es). Se puede determinar hasta qué punto un dominio variable único de inmunoglobulina o polipéptido de la invención es capaz de interferir con la unión de otro compuesto tal como el ligando natural a su diana y, por lo tanto, si se puede decir que bloquea de forma cruzada según la invención, utilizando ensayos de unión competitiva. Un ensayo de bloqueo cruzado cuantitativo particularmente adecuado utiliza un enfoque basado en FACS o ELISA o Alphascreen para medir la competición entre el dominio variable único de inmunoglobulina o polipéptido marcado (por ejemplo, marcado con His o biotinilado) según la invención y el otro agente de unión en términos de su unión a la diana. Son bien conocidos ensayos adecuados basados en desplazamiento por FACS, ELISA o Alphascreen para determinar si una molécula de unión bloquea de forma cruzada o es capaz de bloquear de forma cruzada un polipéptido. Se apreciará que estos ensayos se pueden usar con cualquiera de los dominios variables únicos de inmunoglobulina u otros agentes de unión descritos en el presente documento. Por lo tanto, en general, un polipéptido de bloqueo cruzado de acuerdo con la invención es, por ejemplo, uno que se unirá a la diana en el ensayo de bloqueo cruzado anterior de modo que, durante el ensayo y en presencia de un segundo polipéptido o en presencia del ligando natural, el desplazamiento registrado del dominio variable único o polipéptido de inmunoglobulina de acuerdo con la invención está entre un 60 % y un 100 % (por ejemplo, en el ensayo de

competición basado en ELISA/AlphaScreen) o entre un 80 % y un 100 % (por ejemplo, en el ensayo de competición basado en FACS) del desplazamiento teórico máximo (por ejemplo, el desplazamiento por un solo dominio variable de inmunoglobulina frío (por ejemplo, no marcado) o polipéptido que necesita ser bloqueado cruzado) por el agente potencialmente que se va a ensayar que está presente en una cantidad de 0.01 mM o menor.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) son tales que se unen esencialmente a los mismos residuos de aminoácidos y/o epítipo en FcRn que los residuos de aminoácidos y/o epítipo unidos por el polipéptido con la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 14, 15, 185, 186 y/o 187, e incluso más preferentemente de modo que compartan esencialmente las mismas interacciones de aminoácidos que el polipéptido con la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 14, 15, 185, 186 y/o 187. Para este fin, de acuerdo con un aspecto específico pero no limitante, los antagonistas de FcRn de acuerdo con la presente invención preferiblemente tienen las mismas CDR que la secuencia de SEQ ID NO: 14, 15, 185, 186 y/o 187, o en comparación con la secuencia de SEQ ID NO: 14, 15, 185, 186 y/o 187 contienen preferiblemente dentro de sus CDR solamente dichas mutaciones (tales como sustituciones de aminoácidos conservadoras) que aún les permiten experimentar las mismas o esencialmente las mismas interacciones de aminoácidos con FcRn que el polipéptido con la secuencia de SEQ ID NO: 14, 15, 185, 186 y/o 187.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente al epítipo descrito anteriormente en FcRn con una afinidad (K_A) de entre 10^6 M^{-1} y 10^{11} M^{-1} .

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente al epítipo descrito anteriormente en FcRn con una constante de disociación (K_D) de entre 10^{-6} nM y 10^{-11} M o menos. Preferiblemente, la K_D se determina mediante Kinexa, BLI o SPR, por ejemplo, se determina mediante SPR.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente al epítipo descrito anteriormente en FcRn con una constante de tasa de asociación (k_{on}) seleccionada del grupo que consiste en al menos aproximadamente $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, de al menos aproximadamente $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, al menos aproximadamente $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, al menos aproximadamente $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, al menos aproximadamente $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, al menos aproximadamente $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ y al menos aproximadamente $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, preferiblemente medido por resonancia de plasmón superficial o BLI.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente al epítipo descrito anteriormente en FcRn con una constante de tasa de disociación (k_{off}) seleccionada del grupo que consiste en como máximo aproximadamente 10^{-1}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-2}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-3}s^{-1} , de como máximo aproximadamente 10^{-4}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-5}s^{-1} y como máximo aproximadamente 10^{-6}s^{-1} , preferiblemente medido por resonancia de plasmón superficial o BLI.

Los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) son, en determinadas realizaciones, tales que tienen reactividad cruzada entre FcRn humano y FcRn de al menos una, preferiblemente de al menos dos, más preferiblemente de al menos tres y hasta esencialmente todas las siguientes especies de mamíferos: ratón, perro, rata, conejo, cobaya, cerdo, oveja, vaca y mono cynomolgus.

Cuando se dice que un ISVD presenta **"Reactividad cruzada (mejorada) para la unión a FcRn de humano y primates no humanos"** en comparación con otro ISVD, significa que para dicho ISVD, la relación de la actividad de unión (tal como se expresa en términos de K_D o k_{off}) para FcRn humano y para FcRn de primates no humanos es inferior a la misma relación calculada para los otros ISVD en el mismo ensayo. La buena reactividad cruzada para la unión a FcRn de humanos y primates no humanos permite la evaluación de la toxicidad de un antagonista de FcRn según la presente invención en estudios preclínicos realizados en primates no humanos.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) son tales que tienen (al menos) reactividad cruzada entre FcRn humano y FcRn de mono cynomolgus, y preferiblemente también entre FcRn humano y/o FcRn de mono cynomolgus por un lado, y al menos uno, preferiblemente los dos de FcRn de rata y FcRn de cerdo por otro lado. Por conveniencia, en la secuencia de FcRn, se han resaltado los tramos de aminoácidos que se supone que son parte del supuesto epítipo de los polipéptidos de la invención. Sin limitarse a ningún mecanismo o hipótesis específica, se supone que los polipéptidos de la invención son (esencialmente) capaces de unirse a (uno o más residuos de aminoácidos dentro de) los tramos correspondientes de residuos de aminoácidos que están presentes dentro de la secuencia de aminoácidos de esas proteínas FcRn de mamíferos, con las que los polipéptidos de la invención tienen reactividad cruzada.

Generalmente, se puede considerar que un ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) tiene reactividad cruzada entre FcRn humano y FcRn de una de las otras especies mencionadas anteriormente cuando puede unirse a FcRn humano con una afinidad menor que 500 nM, preferiblemente menos de 200 nM, más preferiblemente menos de 10 nM; y también a FcRn de las especies mencionadas anteriormente con una afinidad menor que 500 nM, preferiblemente menor que 200 nM, más preferiblemente menor que 10 nM, nuevamente ambos determinados usando SPR.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente al epítipo único en FcRn como se describe en el presente documento de una manera dependiente del pH, de modo que su afinidad de unión a un pH ácido, en particular a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, es al menos tres veces mayor que la afinidad de unión a un pH neutro o fisiológico de 7.4. En estas realizaciones particulares, los ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención muestran unión específica condicional a FcRn y, como resultado, haciendo uso del mecanismo de reciclaje mediado por FcRn *in vivo*, tienen una vida media sérica prolongada *in vivo*. Por lo tanto, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente

invención pueden usarse para prolongar la vida media *in vivo* de dianas terapéuticas o moléculas terapéuticas de interés a las que se asocian, unen o fusionan de manera adecuada.

La interacción dependiente del pH de los ISVD con FcRn en determinadas realizaciones particulares de la presente invención garantiza que estos polipéptidos se capturen de manera óptima y rápida en el ambiente ácido de los endosomas y se liberen eficazmente después del reciclaje cuando se encuentren nuevamente con un pH de 7.4 (es decir, fuera de los endosomas).

De esta manera, los presentes inventores han podido demostrar que los antagonistas de FcRn según un determinado aspecto de la presente invención, al unirse específicamente a FcRn de una manera dependiente del pH, muestran una vida media aumentada *in vivo*.

Así, en realizaciones particulares, los antagonistas de FcRn según la invención que comprenden al menos una unión de ISVD al epítipo único en FcRn (como el primer polipéptido, (a)) según la invención y como se divulga en el presente documento, pueden tener una vida media aumentada en comparación con un antagonista de FcRn conocido descrito en la técnica anterior.

Además, los antagonistas de FcRn proporcionados por la invención tienen preferiblemente una vida media (definida como $t_{1/2}$ beta) en el hombre que es más de 1 hora, preferiblemente más de 2 horas, más preferiblemente más de 6 horas, tal como de más de 12 horas, y por ejemplo de aproximadamente un día, dos días, una semana, dos semanas y hasta o incluso mayor que la vida media de la IgG en el hombre (estimada en aproximadamente 19-21 días), aunque esto último puede ser menos crítico.

Los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) también son preferiblemente tales que:

- tienen una vida media en suero en el hombre (expresada como $t_{1/2}$ beta) que es más de 6 horas, preferiblemente más de 12 horas, más preferiblemente más de 24 horas, incluso más preferiblemente más de 72 horas; por ejemplo, de aproximadamente una semana, dos semanas y hasta la vida media de la IgG en el hombre (estimada en aproximadamente 19 a 21 días); y/o tales que

- cuando están unidos a otra fracción o entidad (por ejemplo, comprendidos en el antagonista de FcRn de la presente invención, unidos al polipéptido (b), como se define en el presente documento, confieren al antagonista de FcRn resultante de la invención una vida media en suero que es igual o está aumentada en comparación con la vida media del polipéptido (b) por sí solo; por ejemplo, la vida media en el hombre del antagonista de FcRn que comprende al menos un ISVD como polipéptido (a) (expresada como $t_{1/2}$ beta)) puede ser más de 6 horas, preferiblemente más de 12 horas, tal como más de 18 horas, más preferiblemente más de 24 horas, tal como más de 29 horas, incluso más preferiblemente más de 72 horas; por ejemplo de aproximadamente una semana, dos semanas, y hasta o incluso mayor que la vida media de la IgG en el hombre.

En realizaciones particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente a FcRn con una afinidad (K_A) de entre 10^{-3} nM^{-1} y 10^2 nM^{-1} . La afinidad (K_A) de estos ISVD por FcRn a pH ácido, preferiblemente a un pH de entre 5.0 y 6.8 es al menos tres veces mayor que la afinidad (K_A) de los mismos polipéptidos por FcRn a pH neutro o fisiológico de 7.4.

En realizaciones particulares adicionales, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen a FcRn con una afinidad que es al menos diez veces mayor que la afinidad (K_A) por FcRn de los mismos polipéptidos a pH neutro o fisiológico de 7.4. En otras realizaciones adicionales particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen a FcRn con una afinidad que es al menos cincuenta veces mayor, tal como al menos cien veces mayor que la afinidad (K_A) por FcRn de los mismos polipéptidos a pH neutro o fisiológico de 7.4.

En determinadas realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento caracterizados por el hecho de que los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen a FcRn a un pH neutro o fisiológico de 7.4 con una afinidad que es al menos tres veces, tal como al menos diez veces, tal como al menos cincuenta veces, tal como al menos cien veces menor que la afinidad con la que el al menos un ISVD se une a FcRn a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8.

En una realización particular, a un pH fisiológico tal como a un pH de 7.4, el al menos un ISVD se une a FcRn con un valor de K_A inferior a 10^4 litros/mol.

En determinadas realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento caracterizados por el hecho de que los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) no se unen de forma detectable, selectiva o específica a FcRn, o no presentan ninguna o esencialmente ninguna unión a FcRn a pH neutro o fisiológico, tal como a un pH de 7.4.

En realizaciones particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente a FcRn con una constante de disociación (K_D) de entre 10^{-6} M y 10^{-11} M o menos. Preferiblemente, la K_D se determina mediante Kinexa, BLI o SPR, por ejemplo, se determina mediante SPR.

En realizaciones particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen específicamente a FcRn con una constante de disociación (K_D) de entre 10^3 nM y 10^{-2} nM o menos. La constante de disociación (K_D) de estos ISVD para FcRn a pH ácido, preferiblemente a un pH de entre 5.0 y 6.8 es al menos tres veces mejor (es decir, tiene un valor más bajo) que la constante de disociación (K_D) de los mismos ISVD para FcRn a un pH neutro o fisiológico de aproximadamente 7.4. En realizaciones particulares adicionales, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se unen a FcRn con una afinidad que es al menos diez veces mayor/mejor que la afinidad (K_D) por FcRn de los mismos ISVD a un pH neutro o fisiológico de aproximadamente 7.4. En otras realizaciones adicionales particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD según la invención se unen a FcRn con una afinidad que es al menos cincuenta veces mayor/mejor, tal como al menos cien veces mayor que la afinidad (K_D) por FcRn de los mismos ISVD a un pH neutro o fisiológico de aproximadamente 7.4.

En determinadas realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento caracterizados por el hecho de que el ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) se une a FcRn a un pH neutro o fisiológico de 7.4 con una afinidad que es al menos tres veces, tal como al menos diez veces, tal como al menos cincuenta veces, tal como al menos cien veces menor/peor que la afinidad con la que el al menos un ISVD se une a FcRn a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8.

En una realización particular, a un pH fisiológico tal como a un pH de 7.4, el al menos un ISVD se une a FcRn con un valor de K_D superior a 10^{-4} mol/litro.

En determinadas realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento caracterizados por el hecho de que el ISVD comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención como polipéptido (a) no se une de forma detectable, selectiva o específica a FcRn, o no presenta ninguna o esencialmente ninguna unión a FcRn a pH neutro o fisiológico, tal como a un pH de 7.4.

En consecuencia, la presente invención se refiere a antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento, que comprenden al menos un ISVD como el primer polipéptido (a) que se une a FcRn con un valor de K_D promedio de entre 1000 nM y 10 pM, tal como un valor de K_D promedio de 900 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de K_D promedio de 800 nM o menos, tal como menos de 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50 nM o incluso menos, tal como menos de 40, 30, 20, 10, 5, 1 nM, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 pM, o incluso menos, tal como menos de 10 pM. Preferiblemente, la K_D se determina mediante Kinexa, BLI o resonancia de plasmón superficial (SPR), por ejemplo, se determina por SPR. Preferiblemente, la K_D promedio se mide por SPR en proteína recombinante.

La presente invención también se refiere a antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento, que comprenden al menos un ISVD como el primer polipéptido (a) que se une a FcRn a pH ácido con un valor de EC_{50} de entre 1000 nM y 1 pM, tal como a un valor de EC_{50} promedio de 1000 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de EC_{50} promedio de 900 nM o menos, tal como menos de 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100, 50 nM o incluso menos, tal como menos de 40, 30, 20, 10, 5 o 1 nM o incluso menos, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 pM, o incluso menos, tal como menos de 4 pM.

En realizaciones particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, como el primer polipéptido (a), se unen específicamente a FcRn con una constante de tasa de asociación (k_{on}) seleccionada del grupo que consiste en al menos aproximadamente $10^2 M^{-1} s^{-1}$, al menos aproximadamente $10^3 M^{-1} s^{-1}$, al menos aproximadamente $10^4 M^{-1} s^{-1}$, al menos aproximadamente $10^5 M^{-1} s^{-1}$, al menos aproximadamente $10^6 M^{-1} s^{-1}$, al menos aproximadamente $10^7 M^{-1} s^{-1}$, y al menos aproximadamente $10^8 M^{-1} s^{-1}$, preferiblemente medido por resonancia de plasmón superficial o BLI.

En realizaciones particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, como el primer polipéptido (a), se unen específicamente a

FcRn con una constante de tasa de disociación (k_{off}) seleccionada del grupo que consiste en, como máximo, aproximadamente 10^{-1}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-2}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-3}s^{-1} , de como máximo aproximadamente 10^{-4}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-5}s^{-1} , y como máximo aproximadamente 10^{-6}s^{-1} , preferiblemente medido por resonancia de plasmón superficial o BLI.

5

En realizaciones particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, como el primer polipéptido (a), se unen específicamente a FcRn con una constante de tasa de disociación (k_{off}) seleccionada del grupo que consiste en, como máximo, aproximadamente 10^{-1}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-2}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-3}s^{-1} , de como máximo aproximadamente 10^{-4}s^{-1} , como máximo aproximadamente 10^{-5}s^{-1} , y como máximo aproximadamente 10^{-6}s^{-1} . La constante de disociación (k_{off}) de estas secuencias de aminoácidos y polipéptidos para FcRn a pH ácido, preferiblemente a un pH de entre 5.0 y 6.8 es al menos tres veces menor que la constante de tasa de disociación (k_{off}) de las mismas secuencias de aminoácidos y polipéptidos para FcRn a pH neutro o fisiológico de 7.4. En realizaciones particulares adicionales, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los polipéptidos según la invención se unen a FcRn con una constante de tasa de disociación (k_{off}) que es al menos diez veces menor que la constante de tasa de disociación (k_{off}) para FcRn de los mismos polipéptidos a pH neutro o fisiológico de 7.4. En otras realizaciones adicionales particulares, a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, los polipéptidos según la invención se unen a FcRn con una constante de tasa de disociación (k_{off}) que es al menos cincuenta veces menor, tal como al menos cien veces menor que la constante de tasa de disociación (k_{off}) para FcRn de los mismos polipéptidos a un pH neutro o fisiológico de 7.4.

En determinadas realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento caracterizados por el hecho de que los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), se unen a FcRn a un pH neutro o fisiológico de 7.4 con una constante de tasa de disociación (k_{off}) que es al menos tres veces, tal como al menos diez veces, tal como al menos cincuenta veces, tal como al menos cien veces mayor que la constante de tasa de disociación (k_{off}) con la que el ISVD se une a FcRn a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8.

En determinadas realizaciones particulares, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn como se describe en el presente documento caracterizados por el hecho de que los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención como el primer polipéptido (a), no se unen de forma detectable, selectiva o específica a FcRn, o no presentan ninguna o esencialmente ninguna unión a FcRn a pH neutro o fisiológico, tal como a un pH de 7.4.

En realizaciones particulares, los ISVD comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, como el primer polipéptido (a), tienen una alta afinidad por un epítipo particular en FcRn a un pH ácido de entre 5.0 y 6.8, mientras que muestran una unión reducida o no muestran ninguna unión detectable, selectiva y/o específica a FcRn a un pH fisiológico o neutro de 7.4.

El segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención

Como se ha descrito anteriormente, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden (b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Cualquier polipéptido que compita con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn puede usarse como el al menos un segundo polipéptido comprendido en los antagonistas de FcRn descritos en el presente documento. Este al menos un segundo polipéptido no está limitado siempre que se una específicamente a un epítipo en FcRn y compita con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

En una realización preferida, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención se une específicamente a FcRn con mayor afinidad en relación con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn. En una realización más preferida, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención tiene afinidades de unión a FcRn aumentadas tanto a pH ácido como a pH fisiológico extracelular en comparación con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn.

En otra realización, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención se une específicamente a FcRn con una dependencia reducida del pH con respecto a una región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

En realizaciones adicionales, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención tiene afinidad alterada (aumentada o disminuida) por CD16a en comparación con una región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

En una realización, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un anticuerpo o fragmento del mismo. Por ejemplo, el anticuerpo o un fragmento del mismo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo de fusión, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano o un anticuerpo monocatenario. En una realización, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un ISVD.

En una realización, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un Affibody® (molécula de anticuerpo), un fragmento variable monocatenario (scFv), un Fab, una proteína repetida de anquirina diseñada (DARPin®), una Nanofitin® (también conocida como afitina) o una secuencia de dominio variable de inmunoglobulina (ISVD).

Las moléculas de Affibody son una clase de proteínas de afinidad modificadas por ingeniería genética con potencial comprobado para aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico y biotecnológicas. Las moléculas de Affibody son proteínas pequeñas (6.5 kDa) de dominio único que pueden aislarse para lograr una alta afinidad y especificidad hacia cualquier proteína diana determinada (de *FEBS Letters*, Volumen 584, 12.ª Edición, 18 de junio de 2010, Páginas 2670-2680).

Las afitinas son proteínas artificiales con la capacidad de unirse selectivamente a antígenos. Se proceden estructuralmente de la proteína de unión al ADN Sac7d, que se encuentra en *Sulfolobus*

acidocaldarius. Debido a su pequeño tamaño y alta solubilidad, pueden producirse fácilmente en grandes cantidades usando sistemas de expresión bacterianos (véase, por ejemplo, Kalichuk V. *et al.*, "A novel, smaller scaffold for Affitins: Showcase with binders specific for EpCAM", *Biotechnol Bioeng.* 2018; 115(2):290-299). En una realización preferida, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en una Nanofitin® (también conocida como afitina).

En una realización preferida, el al menos un segundo polipéptido (b) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo, como se ha definido en el presente documento anteriormente en la presente descripción en el contexto del primer polipéptido (a).

En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo se une específicamente a FcRn con mayor afinidad en relación con una región Fc de IgG1 de tipo salvaje. En realizaciones preferidas, el dominio Fc comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención está en una forma dimérica, es decir, comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, véase, por ejemplo, la Figura 1. Por lo tanto, en esta realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden al menos dos polipéptidos (b), es decir, los dos polipéptidos que conforman el dominio Fc dimérico. Por lo tanto, en una realización preferida, el dominio Fc es dimérico, más preferiblemente heterodimérico, como se ha definido anteriormente.

En determinadas realizaciones, la región Fc es una región Fc de IgG. Se pueden utilizar dominios Fc de **cualquier subtipo de IgG** para generar el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención. En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo deriva de un dominio Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana y comprende las sustituciones descritas en el presente documento con respecto al origen de tipo salvaje. En ciertas otras realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo es un Fc artificial derivado de más de un subtipo de IgG. En otras realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende una bisagra quimérica (es decir, una bisagra que comprende porciones de bisagra derivadas de dominios de bisagra de diferentes isotipos de anticuerpos, por ejemplo, un dominio de bisagra superior de una molécula de IgG4 y un dominio de bisagra intermedio de IgG 1). En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo es una región Fc de IgG 1. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo es una región Fc de IgG humana. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo es una región Fc de IgG 1 humana. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo es una región Fc quimérica.

En determinadas realizaciones, el dominio Fc comprende alteraciones, sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos que confieren las características deseadas.

Se describen dominios Fc útiles o fragmentos de unión a FcRn de los mismos que están comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención en los documentos WO 2015/100299 y WO 2019/110823.

En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende al

menos uno, preferiblemente todos, de los siguientes aminoácidos en las siguientes posiciones:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
- b) una treonina (T) en la posición del aminoácido 254,
- c) un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- d) una lisina (K) en la posición del aminoácido 433,
- e) una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434, y/o
- f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 436;

según la numeración EU.

Se proporcionan ejemplos no limitantes de secuencias de aminoácidos que se pueden usar en el dominio Fc o en el fragmento de unión a FcRn del mismo en la Tabla 1 del documento WO 2015/100299 (SEQ ID NO: 22-24 en la presente descripción). En determinadas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 22. En determinadas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 22, 23 o 24. En una realización, si el dominio Fc está en forma

dimérica, es decir, comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 22. Por lo tanto, si el dominio Fc comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consiste en la secuencias de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 23. Por lo tanto, si el dominio Fc comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consiste en la secuencias de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 24. En estas realizaciones, al menos uno y preferiblemente los dos dominios CH3 comprendidos en el dominio Fc comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención pueden comprender mutaciones de protuberancia en cavidad, tal como se ha definido anteriormente. Por lo tanto, si el dominio Fc comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consiste en las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 119 y 120. Además, o como alternativa, los aminoácidos HY en los dominios CH3 del dominio Fc pueden mutar a RF, tal como en las posiciones 435 y 436 (H435R e Y436F en el dominio CH3 como se describe por Jendeborg, L. *et al.* (1997, J. Immunological Meth., 201:25-34)).

En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en la SEQ ID NO:

22. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en la SEQ ID NO:

23. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en la SEQ ID NO:

24. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un heterodímero, en donde las secuencias de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc comprenden o consisten en las SEQ ID NO: 119 y 120.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 22.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 23.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 24.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 119 y/o 120.

En determinadas realizaciones, el antagonista de FcRn comprende un dominio Fc variante o fragmento del mismo que no comprende un *N*-glicano en la posición EU 297. En determinadas realizaciones, el antagonista de FcRn comprende una región Fc variante que comprende un *N*-glicano afucosilado en la posición EU 297. En determinadas realizaciones, el antagonista de FcRn comprende un dominio Fc variante o fragmento del mismo que comprende un *N*-glicano que tiene una GlcNac de bisección en la posición EU 297.

Otros dominios Fc o fragmentos de los mismos que están comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención se describen en el documento WO 2021/016571.

En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención puede comprender una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252, I253, S254, T256, K288, T307, K322, E380, L432, N434 o Y436, y cualquier combinación de las mismas. A menos que se indique lo contrario, todas las posiciones de los residuos de Fc descritas en el presente documento están de acuerdo con el sistema de numeración EU. En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una doble sustitución de aminoácidos en dos posiciones cualesquiera de aminoácidos seleccionadas de M252, I253, S254, T256, K288, T307, K322, E380, L432, N434, e Y436. En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una triple sustitución de aminoácidos en tres posiciones de aminoácidos cualesquiera seleccionadas de M252, I253, S254, T256, K288, T307, K322, E380, L432, N434, e Y436. En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución cuádruple de aminoácidos en cuatro posiciones de aminoácidos cualesquiera seleccionadas de M252, I253, S254, T256, K288, T307, K322, E380, L432, N434 e Y436. En

algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos en cualquiera de las posiciones de aminoácidos seleccionadas de M252, I253, S254, T256, K288, T307, K322, E380, L432 o Y436, y cualquier combinación de las mismas, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida (es decir, la posición de aminoácido N434 es de tipo salvaje).

Por ejemplo, en otras realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252Y (es decir, una tirosina en la posición de aminoácido 252), T256D, T256E, K288D, K288N, T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q, T307W, E380C, N434F, N434P, N434Y, Y436H, Y436N o Y436W, y cualquier combinación de las mismas.

En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácido doble seleccionada de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; K288, en donde la sustitución es K288D o K288N; T307, en donde la sustitución es T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q o T307W; E380, en donde la sustitución es E380C; N434, en donde la sustitución es N434F, N434P o N434Y; Y436, en donde la sustitución es Y436H, Y436N

o Y436W. En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácido triple seleccionada de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; K288, en donde la sustitución es K288D o K288N; T307, en donde la sustitución es T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q o T307W; E380, en donde la sustitución es E380C; N434, en donde la sustitución es N434F, N434P o N434Y; Y436, en donde la sustitución es

Y436H, Y436N o Y436W. En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácido cuádruple seleccionada de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; K288, en donde la sustitución es K288D o K288N; T307, en donde la sustitución es T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q o T307W; E380, en donde la sustitución es E380C; N434, en donde la sustitución es N434F, N434P o N434Y; Y436, en donde la

sustitución es Y436H, Y436N o Y436W. En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos en cualquiera de las posiciones de aminoácidos seleccionadas de M252Y, T256D, T256E, K288D, K288N, T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q, T307W, E380C, Y436H, Y436N o Y436W, y cualquier combinación de las mismas, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida con una fenilalanina (F) o una tirosina (Y). En

algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos en cualquiera de las posiciones de aminoácidos seleccionadas de M252Y, T256D, T256E, K288D, K288N, T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q, T307W, E380C, Y436H, Y436N o Y436W, y cualquier combinación de las mismas, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida con una tirosina (Y). En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un

fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos en cualquiera de las posiciones de aminoácidos seleccionadas de M252Y, T256D, T256E, K288D, K288N, T307A, T307E, T307F, T307M, T307Q, T307W, E380C, Y436H, Y436N o Y436W y cualquier combinación de las mismas,

en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida (es decir, la posición de aminoácido N434 es de tipo salvaje).

En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252, T256, T307 o N434, y cualquier combinación de las mismas. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una doble sustitución de aminoácidos en dos posiciones cualesquiera de aminoácidos seleccionadas de M252, T256, T307 y N434. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una triple sustitución de aminoácidos en tres posiciones de aminoácidos cualesquiera seleccionadas de M252, T256, T307 y N434. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución cuádruple de aminoácidos en cuatro posiciones de aminoácidos cualesquiera seleccionadas de M252, T256, T307 y N434. En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252, T256 o T307, y cualquier combinación de las mismas, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida (es decir, la posición de aminoácido N434 es de tipo salvaje).

En realizaciones ilustrativas, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; T307, en donde la sustitución es T307Q o T307W; o N434, en donde la sustitución es N434F o N434Y, y cualquier combinación de las mismas. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una doble sustitución de aminoácidos en dos posiciones cualesquiera de aminoácidos seleccionadas de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; T307, en donde la sustitución es T307Q o T307W; o N434, en donde la sustitución es N434F o N434Y. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución triple de aminoácidos en tres posiciones de aminoácidos cualesquiera seleccionadas de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; T307, en donde la sustitución es T307Q o T307W; o N434, en donde la sustitución es N434F o N434Y. En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución cuádruple en posiciones de aminoácidos seleccionadas de M252, en donde la sustitución es M252Y; T256, en donde la sustitución es T256D o T256E; T307, en donde la sustitución es T307Q o T307W; o N434, en donde la sustitución es N434F o N434Y. En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácido seleccionada entre M252Y, T256D, T256E, T307Q, o T307W, y cualquier combinación de los mismos, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida con una fenilalanina (F) o una tirosina (Y). En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252Y, T256D, T256E, T307Q o T307W, y cualquier combinación de las mismas, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida con una tirosina (Y).

En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos seleccionada de M252Y, T256D, T256E, T307Q o T307W, y cualquier combinación de las mismas, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida (es decir, la posición de aminoácido N434 es de tipo salvaje).

5 En determinadas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender una sustitución de aminoácidos seleccionada de T256D, o T256E, y/o T307W, o T307Q, y comprende además una sustitución de aminoácidos seleccionada de N434F o N434Y o M252Y. En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos seleccionada de T256D, o T256E, y/o T307W, o T307Q, y
10 comprenda además la sustitución de aminoácidos M252Y, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida con una fenilalanina (F) o una tirosina (Y). En algunas realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácido seleccionada de T256D, o T256E, y/o T307W, o T307Q, y comprenda además la sustitución de aminoácido M252Y, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida con una tirosina (Y). En algunas
15 realizaciones, puede ser deseable que un dominio Fc o un fragmento de unión a FcRn del mismo comprenda una sustitución de aminoácidos seleccionada de T256D, o T256E, y/o T307W, o T307Q, y comprenda además la sustitución de aminoácidos M252Y, en donde la posición de aminoácido N434 no está sustituida (es decir, la posición de aminoácido N434 es de tipo salvaje).

En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender
20 las sustituciones de aminoácidos que se muestran en la FIG. 33 del documento WO 2021/016571. Por ejemplo, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender sustituciones dobles de aminoácidos M252Y/N434Y (YY); o sustituciones triples de aminoácidos seleccionadas de M252Y/T307W/N434Y (YWW), M252Y/T256D/N434Y (YDY) y T256D/307W/N434Y (DWY).

En algunas realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo puede comprender
25 una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWW), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY).

En otras realizaciones, el dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende una
30 combinación de los siguientes cuatro residuos de aminoácido:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
- b) un ácido aspártico (D) o un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- c) un triptófano (W) o una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307, y
- d) una fenilalanina (F) o una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;

35 según la numeración Eu.

En otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25 con al menos una de las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 26 con las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 27 con las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 61 con las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente.

Por lo tanto, si el dominio Fc está en forma dimérica, es decir, comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 25 con al menos una de las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente. Por lo tanto, si el dominio Fc comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consisten en las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 26 con al menos una de las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente. Por lo tanto, si el dominio Fc comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consisten en las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 27 con al menos una de las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente. Por lo tanto, si el dominio Fc comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender dos polipéptidos que comprenden o que consisten en las secuencias de aminoácidos expuestas en las SEQ ID NO: 61 con al menos una de las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente. En estas realizaciones, al menos uno y preferiblemente los dos dominios CH3 comprendidos en el dominio Fc comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención pueden comprender mutaciones de protuberancia en cavidad, tal como se ha definido anteriormente. Además o como alternativa, los aminoácidos HY en los dominios CH3 del dominio Fc pueden mutar a RF, tal como en las posiciones 435 y 436 (H435R e Y436F en el dominio CH3 como se describe por Jendeborg, L. *et al.* (1997, J. Immunological Meth., 201:25-34)).

En otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en una cualquiera de las SEQ ID NO: 25, 26, 27 o 61, con al menos una de las sustituciones de aminoácidos mencionadas anteriormente y que comprende además una secuencia enlazadora, por ejemplo, tal como se muestra en la Tabla 4, en la región N- y/o C-terminal de la secuencia. En una realización preferida, el enlazador comprende o consiste en las SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44 o 66. En una realización preferida adicional, el enlazador está comprendido en la región N-terminal del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn como se expone en una

cualquiera de las SEQ ID NO: 25, 26, 27 o 61 con al menos una de las sustituciones de aminoácidos enumeradas anteriormente. En una realización preferida adicional, el enlazador comprende o consiste en la SEQ ID NO: 66.

En otras realizaciones, el dominio Fc o fragmento del mismo comprende una combinación de los siguientes cuatro residuos de aminoácido:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
- b) un ácido aspártico (D) o un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- c) un triptófano (W) o una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307, y
- d) una fenilalanina (F) o una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;

según la numeración Eu.

En otras realizaciones, el dominio Fc o fragmento del mismo comprende una combinación de residuos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;
- b) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256, un triptófano (W) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;
- c) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;
- d) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434;
- e) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, un triptófano (W) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434; y
- f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, un triptófano (W) en la posición del aminoácido 307 y una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434.

Por lo tanto, si el dominio Fc está en forma dimérica, es decir, comprende o consiste en al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir, dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender o consistir en dos polipéptidos que comprenden o que consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 123. En estas realizaciones, al menos uno y preferiblemente los dos dominios CH3 comprendidos en el dominio Fc comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención pueden comprender mutaciones de protuberancia en cavidad, como se ha definido anteriormente. Por lo tanto, si el dominio Fc está en forma dimérica, es decir, comprende al menos una región bisagra o parte de ella, dos dominios CH2 y dos dominios CH3, es decir,

dos fragmentos polipeptídicos, el dominio Fc puede comprender o consistir en dos polipéptidos que comprenden o que consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 121 y 122. Además, o como alternativa, los aminoácidos HY en los dominios CH3 del dominio Fc pueden mutar a RF, tal como en las posiciones 435 y 436 (H435R e Y436F en el dominio CH3 como se describe por Jendeborg, L. *et al.* (1997, J. Immunological Meth., 201:25-34)).

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 121 y/o 122.

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 123.

En otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn del mismo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-123, con al menos una de las sustituciones de aminoácidos mencionadas anteriormente y que comprende además una secuencia enlazadora, por ejemplo, tal como se muestra en la Tabla 4, en la región N- y/o C-terminal de la secuencia. En una realización preferida, el enlazador comprende o consiste en las SEQ ID NO: 41, 42, 43, 44 o 66. En una realización preferida adicional, el enlazador está comprendido en la región N-terminal del dominio Fc o fragmento de unión a FcRn como se expone en una cualquiera de las SEQ ID NO: 120-123. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un heterodímero, en donde las secuencias de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc comprenden o consisten en las SEQ ID NO: 121 y/o 122.

Por lo tanto, preferiblemente, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende dos fragmentos polipeptídicos (cadenas). En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica, preferiblemente en forma heterodimérica. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. La otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3, que pueden ser iguales o diferentes que la otra cadena o fragmento polipeptídico, como se ha descrito en detalle anteriormente. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender la SEQ ID NO: 121, y la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender la SEQ ID NO: 122. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender la SEQ ID NO: 119, y la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender la SEQ ID NO: 120. Por ejemplo, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender la SEQ ID NO: 123. Por ejemplo, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender la SEQ ID NO: 23. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn.

En determinadas realizaciones, el dominio Fc puede mutarse para disminuir la función efectora usando técnicas conocidas en este campo. En algunas realizaciones, el Fc modificado en el presente

documento también tiene una afinidad de unión alterada a los receptores de Fc-gamma (FcyR). Los FcyR pertenecen a una familia que incluye varios miembros, por ejemplo, FcyRI, FcyRIIa, FcyRIIb, FcyRIIIa y FcyRIIb. En algunas realizaciones, el Fc modificado en el presente documento, aunque tiene afinidades de unión a FcRn mejoradas, tiene una afinidad de unión a FcyRIIIa reducida, en comparación con un dominio Fc de tipo salvaje. En determinadas realizaciones, la Fc variante tiene afinidad aumentada por FcyRIIIa, denominada CD 16a en esta solicitud.

Antagonistas de FcRn que comprenden el dominio Fc con mutaciones YTE-KF

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor de Fc (FcRn); y
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn,

en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende al

menos uno, preferiblemente todos, de los siguientes aminoácidos en las siguientes posiciones a) una tirosina (Y) en la posición de aminoácido 252,

- b) una treonina (T) en la posición del aminoácido 254,
- c) un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- d) una lisina (K) en la posición del aminoácido 433,
- e) una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434, y/o
- f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 436;

según la numeración EU.

En ciertas realizaciones, el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc que es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en la SEQ ID NO: 22. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en la SEQ ID NO: 23. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en la SEQ ID NO: 24. En determinadas realizaciones, el dominio Fc es un heterodímero, en donde las secuencias de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc comprenden o consisten en las SEQ ID NO: 119 y 120.

En determinadas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 22 (CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALK FHYTQKSLSLSPG).

En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 23 (DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK).

En ciertas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 24 (DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPG).

En determinadas realizaciones, las secuencias de aminoácidos de los dominios Fc de la región Fc variante comprenden o consisten en la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 119 y/o 120.

Las secuencias 119 y 120 son las siguientes:

Descripción	SEQ ID NO	Secuencia
(YTEKF, protuberancia)	119	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPG
(YTEKF, cavidad)	120	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPG

En esta realización, el al menos un primer polipéptido (a) puede ser cualquier polipéptido como se describe en el presente documento, véase, por ejemplo, la sección "El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención".

El dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. En una realización, el dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente está unido covalentemente mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39) o un enlazador de bisagra, tal como un enlazador de bisagra G1 corto (por

ejemplo, SEQ ID NO: 66), que puede ser parte del dominio Fc. El dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) en la región *N*- o *C*-terminal del dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente.

5 Los dominios Fc con los aminoácidos anteriores (YTE-KF) se han descrito anteriormente en esta descripción y se aplican igualmente a las presentes realizaciones.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, el al menos un primer polipéptido (a) de esta realización comprende o consiste en un ISVD, como se define en el presente documento. Por tanto, en una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

- a) al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, como se describe en el presente documento; y
- 15 b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende al menos uno, preferiblemente todos, de los siguientes aminoácidos en las siguientes posiciones
 - a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
 - 20 b) una treonina (T) en la posición del aminoácido 254,
 - c) un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
 - d) una lisina (K) en la posición del aminoácido 433,
 - e) una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434, y/o
 - f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 436;
- 25 según la numeración EU.

preferiblemente en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc que es un homodímero, en donde la secuencia de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc consiste en SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23 o SEQ ID NO: 24, o en donde el dominio Fc es un heterodímero, en donde las secuencias de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc comprenden o consisten en SEQ ID NO: 119 y 120.

El dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. En una realización, el dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente está unido covalentemente mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39) o un enlazador de bisagra, tal como un enlazador de bisagra G1 corto (por

ejemplo, SEQ ID NO: 66), que puede ser parte del dominio Fc. El dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) en la región *N*- o *C*-terminal del dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente.

5 En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una CDR2 (numeración AbM)
10 que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13.

Si se utilizan las definiciones de CDR según Kabat, entonces en esta realización el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1
15 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a
20 un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 15. Si el polipéptido (a) está situado en el extremo *N* del antagonista de FcRn, entonces el ISVD puede comprender una mutación E1D. En este caso particular, el ISVD preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 185.

En una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:
25 a) al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(E1D,W100cS) (SEQ ID NO: 185) o T0263018B11(W100cS) (SEQ ID NO: 15); y
b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a
30 FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende al menos uno, preferiblemente todos, de los siguientes aminoácidos en las siguientes posiciones:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
- b) una treonina (T) en la posición del aminoácido 254,
- 35 c) un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
- d) una lisina (K) en la posición del aminoácido 433,
- e) una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434, y/o
- f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 436;

según la numeración EU,

preferiblemente en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc que es un heterodímero, en donde las secuencias de aminoácidos de cada uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc comprenden o consisten en las SEQ ID NO: 119 y 120.

SEQ ID NO: 15 (T0263018B11-W100cS) es la siguiente:

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTD
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLTSLTSYSYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 185 (T0263018B11(E1D,W100cS)) es la siguiente:

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTD
YADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLTSLTSYSYWGQGLTVTVSS

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende dos fragmentos polipeptídicos (cadenas). Por lo tanto, en una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica, preferiblemente en forma heterodimérica. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. La otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender la SEQ ID NO: 119, y la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender la SEQ ID NO: 120. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(E1D,W100cS) (SEQ ID NO: 185), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11 (W100cS) (SEQ ID NO: 15).

En otra realización, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N, unida covalentemente directamente o por medio de un enlazador, preferentemente unida directamente o unida por medio de una bisagra de IgG1, véase la Tabla 4, por ejemplo, la SEQ ID NO: 66) y un ISVD C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(E1D,W100cS) (SEQ ID NO: 185).

Por ejemplo, en otra realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un ISVD N-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende

o consiste en T0263018B11(E1D,W100cS), definido por la SEQ ID NO: 185, seguido de un polipéptido C-terminal definido por la SEQ ID NO: 119; y

- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 120.

5 En una realización, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo C, unido covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador 35GS como se define en el presente documento, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(W100cS) (SEQ ID NO: 15).

Por ejemplo, en una realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

15 - una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un polipéptido N-terminal definido por la SEQ ID NO: 119, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(W100cS) (SEQ ID NO: 15); y

- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 120.

20 En una realización preferida, el antagonista de FcRn es TP067, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: T0263018B11(E1D,W100cS) (SEQ ID NO: 185)-Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 119); y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 120).

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TP069, que comprende dos cadenas:

25 - Cadena 1: Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 119)-35GS-T0263018B11(W100cS) (SEQ ID NO: 15); y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 120).

Antagonistas de FcRn que comprenden el dominio Fc con mutaciones YDQY

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

30 a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor de Fc (FcRn); y

b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn,

35 en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWW), y

M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY). Preferiblemente, el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende la sustitución cuádruple de aminoácidos M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY). Incluso más preferiblemente, el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

SEQ ID NO: 121-123 son las siguientes (la bisagra IgG1 está subrayada):

Descripción	SEQ ID NO	Secuencia
Regiones Fc (YDQY, protuberancia)	121	<u>DKTHTCPPCP</u> APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLQVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCR DELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSL SPG
Regiones Fc (YDQY, cavidad)	122	<u>DKTHTCPPCP</u> APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLQVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPR DELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSLS PG
Regiones Fc (YDQY, sin KIH)	123	<u>DKTHTCPPCP</u> APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLQVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHYHYTQKSLSLS PG

En esta realización, el al menos un primer polipéptido (a) puede ser cualquier polipéptido como se describe en el presente documento, véase, por ejemplo, la sección "El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención". El segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

El dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. En una realización, el dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente está unido covalentemente mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39). El dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) en la región N- o C-terminal del dominio Fc o fragmento del mismo como se ha descrito anteriormente.

El al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn comprendido en el antagonista de FcRn de esta realización puede ser cualquier polipéptido como se describe en el presente documento, véase, por ejemplo, la sección "El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención". En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, el al menos un primer polipéptido (a) de esta realización comprende o consiste en un ISVD, como se define en el presente documento. Por tanto, en una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

a) al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, como se describe en el presente documento; y

b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEQY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEQY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

Si se utilizan las definiciones de CDR según Kabat, entonces en esta realización el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 186. Si el polipéptido (a) está situado en el extremo *N* del antagonista de FcRn, entonces el ISVD puede comprender una mutación E1D. En este caso particular, el ISVD preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 187.

En otra realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130.

Si se utilizan las definiciones de CDR según Kabat, entonces en esta realización el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 131. Si el polipéptido (a) está situado en el extremo *N* del antagonista de FcRn, entonces el ISVD puede comprender una mutación E1D.

En otra realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143.

Si se utilizan las definiciones de CDR según Kabat, entonces en esta realización el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 144. Si el polipéptido (a) está situado en el extremo *N* del antagonista de FcRn, entonces el ISVD puede comprender una mutación E1D.

En una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

a) al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263204B12 (SEQ ID NO: 144); y

b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

SEQ ID NO: 186 (T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS)) es la siguiente:

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYAD
SVKGRFTISRDNKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLTYTSLESYSYWGQGTLLTVSS

Si el ISVD T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) está situado en el extremo *N* de un polipéptido, puede comprender preferiblemente una mutación E1D con respecto a la SEQ ID NO: 186, véase la SEQ ID NO: 187:

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYAD
SVKGRFTISRDNKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLTYTSLESYSYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO: 131 (T0263091D07) es la siguiente:

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFDYYMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGSSSTYYADS
VKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAADYLSVPDPSYEWGQGTLTVTVSS

SEQ ID NO: 144 (T0263204B12) es la siguiente:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVLCISSSGDSTYYADSV
KGRFTISRDN AKNTVY LQMDSLNPEDTAVYYCAVDPPSYWTGTGCLYGYRYWGQGT LTVTVSS

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende dos fragmentos polipeptídicos (cadenas). Por lo tanto, en una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica, preferiblemente en forma heterodimérica. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. La otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender la SEQ ID NO: 121, y la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender la SEQ ID NO: 122. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo *N* y/o *C*, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo *N* y/o *C*, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263204B12 (SEQ ID NO: 144).

En una realización, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo *C*, unido covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador 35GS como se define en el presente documento, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131), o en donde el ISVD comprende o consiste en T0263204B12 (SEQ ID NO: 144).

En otra realización, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo *N*, unida covalentemente directamente o por medio de un enlazador, preferentemente unida directamente o unida por medio de una bisagra de IgG1, véase la Tabla 4, por ejemplo, la SEQ ID NO: 66), que puede ser parte del dominio Fc, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186).

Por ejemplo, en una realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un polipéptido *N*-terminal definido por la SEQ ID NO: 121, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186); y
- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 122.

Por ejemplo, en otra realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un polipéptido *N*-terminal definido por la SEQ ID NO: 121, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131); y
- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 122.

Por ejemplo, en otra realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un polipéptido *N*-terminal definido por la SEQ ID NO: 121, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263204B12 (SEQ ID NO: 144); y
- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 122.

Por ejemplo, en otra realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un ISVD *N*-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) E1D, definido por la SEQ ID NO: 187, seguido de un polipéptido C-terminal definido por la SEQ ID NO: 121; y
- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 122.

En una realización preferida, la primera y/o segunda cadena o fragmento polipeptídico como se han definido anteriormente comprenden una alanina C-terminal. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39).

En una realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122907, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186)-A; y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122).

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122908, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO.: 121)-35GS- T0263091D07 (SEQ ID NO: 131)-A; y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122).

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122909, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS- T0263204B12 (SEQ ID NO: 144)-A; y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122).

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122905, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: T0263018B11(E1D,Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 187)-Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121); y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122).

En otra realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor Fc (FcRn), como se define en el presente documento;

b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn; y

c) al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, opcionalmente unido a través de uno o más enlazadores, tales como enlazadores peptídicos, como se ha definido anteriormente, en donde dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes proporcionan el antagonista de la presente tecnología con mayor vida media (*in vivo*), en comparación con el antagonista correspondiente sin dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes ("fracción que prolonga la vida media (*in vivo*)" o "fracción que prolonga la vida media (HLE)"), como se describe en el presente documento,

en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

En una realización, el al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión (c) adicional es un ISVD, por ejemplo un ISVD que se une a albúmina sérica humana (HSA), como se describe en el presente documento. Preferiblemente, el al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión (c) es un ISVD que se une a albúmina sérica humana y comprende una CDR1 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, una CDR2 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una CDR3 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, o, utilizando la definición de Kabat, una CDR1 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, una CDR2 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una CDR3 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18. Preferiblemente, el ISVD que se une a la albúmina sérica humana se puede seleccionar entre los ISVD de la Tabla 5. Más preferiblemente, el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 58.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, el al menos un primer polipéptido (a) de esta realización comprende o consiste en un ISVD, como se define en el presente documento. Preferiblemente, el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186).

En otra realización, el al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY). Preferiblemente, el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende la sustitución cuádruple de aminoácidos M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY). Más preferiblemente, el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

Por tanto, en una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo en el receptor Fc (FcRn), que comprende o consiste en un ISVD, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186);
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn que comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente que comprende la sustitución de aminoácidos cuádruple

M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico; y

- c) al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, que es un ISVD, por ejemplo un ISVD que se une a albúmina sérica humana (HSA), preferiblemente en donde el ISVD se une a la albúmina sérica humana y se selecciona de los ISVD de la Tabla 5, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 58.

Los tres componentes de los antagonistas de FcRn en esta realización (a, b y c) pueden estar unidos covalentemente entre sí directamente o mediante un enlazador. En una realización preferida, a), b) y c) están unidos covalentemente entre sí mediante un enlazador, preferiblemente un enlazador peptídico, tal como un enlazador como se muestra en la Tabla 4. Preferiblemente, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39). Por lo tanto, en una realización preferida, a), b) y c) están unidos entre sí mediante un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39).

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica, preferiblemente en forma heterodimérica. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender la SEQ ID NO: 121, y la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender la SEQ ID NO: 122. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn y/o al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, opcionalmente unido a través de uno o más enlazadores, tales como enlaces peptídicos, como se ha definido anteriormente. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186). Por ejemplo, la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, opcionalmente unido a través de uno o más enlazadores, tales como enlazadores peptídicos, como se ha definido anteriormente.

En una realización, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo C, unido covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador 35GS como se define en el presente documento, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186). La otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender en su extremo C, unida covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador de 35GS como se define en el presente documento, al menos un grupo, residuo, fracción o

unidad de unión adicional, como se ha definido anteriormente, preferiblemente una ISVD de unión a albúmina, más preferiblemente una ISVD que se une a albúmina sérica humana y comprende una CDR1 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, una CDR2 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una CDR3 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, o, usando la definición de Kabat, una CDR1 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, una CDR2 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una CDR3 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, incluso más preferentemente, una ISVD de unión a albúmina que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 58.

Por ejemplo, en una realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un polipéptido *N*-terminal definido por la SEQ ID NO: 121, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD *C*-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186); y
- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende una cadena o fragmento polipeptídico *N*-terminal que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 122 seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y una ISVD de unión a albúmina *C*-terminal, preferentemente una ISVD que se une a albúmina sérica humana y comprende una CDR1 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, una CDR2 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una CDR3 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, o, usando la definición de Kabat, una CDR1 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, una CDR2 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una CDR3 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18, más preferiblemente una ISVD de unión a albúmina seleccionada de la Tabla 5, incluso más preferiblemente que comprende o consiste en SEQ ID NO: 58.

En una realización preferida, la primera y/o segunda cadena o fragmento polipeptídico como se han definido anteriormente comprenden una alanina *C*-terminal. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39).

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122910, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186)-A; y
- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)-35GS-ALB23002 (SEQ ID NO: 58)-A.

En otra realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) dos primeros polipéptidos que se unen específicamente a un epítipo del receptor Fc (FcRn), como se define en el presente documento;

b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

Preferiblemente, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

En una realización, al menos uno de los al menos dos primeros polipéptidos (a) que se unen específicamente a un epítipo en FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, los al menos dos primeros polipéptidos (a) que se unen específicamente a un epítipo en FcRn no compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, no compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, los al menos dos primeros polipéptidos (a) de esta realización comprenden o consisten en un ISVD, como se define en el presente documento. Preferiblemente, el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186).

En otra realización, el al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY). Preferiblemente, el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende la sustitución cuádruple de aminoácidos M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY). Más preferiblemente, el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico.

Por tanto, en una realización preferida, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos dos primeros polipéptidos que se unen específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), cada uno de los cuales comprende o consiste en un ISVD, preferiblemente en donde cada ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186);
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn que comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de

M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF),
 M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY),
 M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY),
 preferiblemente que comprende la sustitución de aminoácidos cuádruple
 5 M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del
 mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o
 consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico.

Los tres componentes de los antagonistas de FcRn en esta realización (dos primeros polipéptidos
 (a) y un polipéptido (b)) pueden estar unidos covalentemente entre sí directamente o mediante un
 10 enlazador. En una realización preferida, los dos primeros polipéptidos (a) y el polipéptido (b) están unidos
 covalentemente entre sí mediante un enlazador, preferiblemente un enlazador peptídico, tal como un
 enlazador como se muestra en la Tabla 4. Preferiblemente, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por
 ejemplo, la SEQ ID NO: 39). Por lo tanto, en una realización preferida, los dos primeros polipéptidos (a) y
 el polipéptido (b) están unidos entre sí por medio de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39).

15 En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica,
 preferiblemente en forma homodimérica. Por ejemplo, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden
 comprender la SEQ ID NO: 123. Las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender, en su
 extremo *N* y/o *C*, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer
 polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn, como se define en el presente
 20 documento. Por ejemplo, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender, en su extremo
N y/o *C*, preferiblemente en su extremo *C*, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador,
 al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD
 no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD
 comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186).

25 En una realización, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender, en su
 extremo *C*, unido covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador 35GS como
 se define en el presente documento, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el
 receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión
 a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en
 30 T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186).

Por ejemplo, en una realización, el antagonista de FcRn es homodimérico y comprende o consiste
 en dos cadenas o fragmentos polipeptídicos, cada uno de los cuales comprende un polipéptido *N*-terminal
 definido por la SEQ ID NO: 123, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD *C*-terminal que
 se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la
 35 región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o
 consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186).

En una realización preferida, una o las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos como se han
 definido anteriormente comprenden una alanina *C*-terminal.

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122903, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186)-A; y

- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO:186)-A.

En otra realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

a) dos primeros polipéptidos que se unen específicamente a un epítipo del receptor Fc (FcRn), como se define en el presente documento;

b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

Preferiblemente, el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico (dos veces SEQ ID NO: 123) o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

En una realización, al menos uno de los al menos dos primeros polipéptidos (a) que se unen específicamente a un epítipo en FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, los al menos dos primeros polipéptidos (a) que se unen específicamente a un epítipo en FcRn no compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, no compiten con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, los al menos dos primeros polipéptidos (a) de esta realización comprenden o consisten en un ISVD, como se define en el presente documento. Preferiblemente, el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131).

En otra realización, el al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY). Preferiblemente, el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprende la sustitución cuádruple de aminoácidos M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY). Más preferentemente, el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico (dos polipéptidos que comprenden o consisten en la SEQ ID NO: 123).

Por tanto, en una realización preferida, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos dos primeros polipéptidos que se unen específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), cada uno de los cuales comprende o consiste en un ISVD, preferiblemente en donde cada ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131);
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn que comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente que comprende la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico (dos polipéptidos que comprenden o consisten en SEQ ID NO: 123).

Los tres componentes de los antagonistas de FcRn en esta realización (dos primeros polipéptidos (a) y un polipéptido (b)) pueden estar unidos covalentemente entre sí directamente o mediante un enlazador. En una realización preferida, los dos primeros polipéptidos (a) y el polipéptido (b) están unidos covalentemente entre sí mediante un enlazador, preferiblemente un enlazador peptídico, tal como un enlazador como se muestra en la Tabla 4. Preferiblemente, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39). Por lo tanto, en una realización preferida, los dos primeros polipéptidos (a) y el polipéptido (b) están unidos entre sí por medio de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39).

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica, preferiblemente en forma homodimérica. Por ejemplo, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender la SEQ ID NO: 123. Las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn, como se define en el presente documento. Por ejemplo, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender, en su extremo N y/o C, preferiblemente en su extremo C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131).

En una realización, las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos pueden comprender, en su extremo C, unido covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador 35GS como se define en el presente documento, al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131).

Por ejemplo, en una realización, el antagonista de FcRn es homodimérico y comprende o consiste en dos cadenas o fragmentos polipeptídicos, cada uno de los cuales comprende un polipéptido *N*-terminal definido por la SEQ ID NO: 123, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un ISVD C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o
 5 consiste en T0263091D07 (SEQ ID NO: 131).

En una realización preferida, una o las dos cadenas o fragmentos polipeptídicos como se han definido anteriormente comprenden una alanina C-terminal.

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122904, que comprende dos cadenas:

- 10 - Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)-35GS- T0263091D07 (SEQ ID NO: 131)-A; y
 - Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)-35GS- T0263091D07 (SEQ ID NO: 131)-A.

En otra realización, el al menos un primer polipéptido (a) comprende o consiste en un fragmento
 15 variable monocatenario (scFv), preferiblemente en donde el scFv no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, como se define en el presente documento. Por tanto, en una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

a) al menos un scFv que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el scFv preferiblemente no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn,
 20 como se describe en el presente documento; y

b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF),
 25 M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDQY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO:
 30 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

En una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

a) al menos un scFv que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el scFv preferiblemente no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn,
 35 preferiblemente en donde el scFv comprende o consiste en la SEQ ID NO: 201); y

b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn es un dominio Fc o un fragmento del mismo que comprende una sustitución de

aminoácidos cuádruple seleccionada de M252Y/T256D/T307Q/N434F (YDQF), M252Y/T256D/T307W/N434F (YDWF), M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), M252Y/T256E/T307Q/N434Y (YEQY), M252Y/T256D/T307W/N434Y (YDWY), y M252Y/T256E/T307W/N434Y (YEWY), preferiblemente la sustitución de aminoácidos cuádruple M252Y/T256D/T307Q/N434Y (YDQY), más preferiblemente el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 121-123, preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 123 para un dominio Fc homodimérico o comprende o consiste en 121 y 122 para un dominio Fc heterodimérico.

SEQ ID NO: 201 es la siguiente:

DIQLTQSPSSLSASVGDRVLTLCQATQDIDNNLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGS
GSGTDFTFITISDLQPEDVATYYCQQYYNLPLTFGGGTKVDIKRSRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQL
VQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTM
TRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVDLGDGWGQGLTVTVSS

En una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende dos fragmentos polipeptídicos (cadenas). Por lo tanto, en una realización, el antagonista de FcRn de la presente invención está en forma dimérica, preferiblemente en forma heterodimérica. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. La otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender al menos una región bisagra o una parte de ella, un dominio CH2 y un dominio CH3. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender la SEQ ID NO: 121, y la otra cadena o fragmento polipeptídico puede comprender la SEQ ID NO: 122. Una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. Por ejemplo, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo N y/o C, unido covalentemente directamente o mediante un enlazador, al menos un scFv que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el scFv preferiblemente no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el scFv comprende o consiste en la SEQ ID NO: 201).

En una realización, una de las cadenas o fragmentos polipeptídicos puede comprender, en su extremo C, unido covalentemente por medio de un enlazador, preferiblemente un enlazador 35GS como se define en el presente documento, al menos un scFv que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el scFv no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el scFv comprende o consiste en la SEQ ID NO: 201). Por ejemplo, en una realización, el antagonista de FcRn es heterodimérico y comprende o consiste en:

- una cadena o fragmento polipeptídico que comprende un polipéptido N-terminal definido por la SEQ ID NO: 121, seguido de un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39) y un scFv C-terminal que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el scFv no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el scFv comprende o consiste en la SEQ ID NO: 201); y

- una segunda cadena o fragmento polipeptídico que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 122.

En una realización, la primera y/o segunda cadena o fragmento polipeptídico como se han definido anteriormente comprenden una alanina C-terminal. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39).

En una realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122912, que comprende dos cadenas:

- Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS- scFv de anticuerpo FnAb12 contra FcRn (SEQ ID NO: 201); y
- Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122).

Antagonistas de FcRn que comprenden dos ISVD

En otra realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor de Fc (FcRn); y
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn,

en donde el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un ISVD.

En esta realización, el al menos un primer polipéptido (a) puede ser cualquier polipéptido como se describe en el presente documento, véase, por ejemplo, la sección "El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención" y el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un ISVD.

En determinadas realizaciones, el ISVD comprendido en el **al menos un** segundo polipéptido como se define en (b) comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);
- y
- CDR2 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);

y

- CDR3 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
 - 5 c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157).

Preferiblemente, las secuencias CDR de al menos un segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn que es un ISVD tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como una identidad de secuencia de aminoácidos del 99 % o más, o incluso esencialmente una identidad de secuencia de aminoácidos del 100 % con las secuencias CDR de SEQ ID NO: 155, 156 y/o 157.

En una realización adicional, el al menos un segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn que es un ISVD comprende CDR (numeración AbM) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 158 o 168. Incluso más preferentemente, el dominio Fc o un fragmento del mismo comprende o consiste en la SEQ ID NO: 158 cuando el ISDV está en la posición *N*-terminal.

El ISVD comprendido en al menos un segundo polipéptido (b) puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. En una realización, el ISVD comprendido en el polipéptido (b) como se ha descrito anteriormente está unido covalentemente mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn. El enlazador puede ser uno como se muestra en la Tabla 4. En una realización preferida, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39). El ISVD comprendido en al menos un segundo polipéptido (b) como se ha descrito anteriormente puede estar unido covalentemente directamente o mediante un enlazador al al menos un primer polipéptido (a) en la región *N* o *C*-terminal del ISVD comprendida en el al menos un segundo polipéptido (b) del mismo como se ha descrito anteriormente.

El al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn comprendido en el antagonista de FcRn de esta realización puede ser cualquier polipéptido como se describe en el presente documento, véase, por ejemplo, la sección "El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención". En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en FcRn no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Preferiblemente, el al menos un primer polipéptido (a) de esta realización

comprende o consiste en un ISVD, como se define en el presente documento. Por tanto, en una realización preferida, los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden:

a) al menos un ISVD que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, como se describe en el presente documento; y

b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el **al menos un** segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un ISVD, preferiblemente en donde el ISVD comprendido en el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 155, 156, y/o 157, incluso más preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en SEQ ID NO: 158 o 168, preferiblemente en donde el al menos un segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión con FcRn que es un ISVD consiste en SEQ ID NO: 158.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un ISVD, como se ha descrito anteriormente en esta descripción. Por lo tanto, en una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) se une específicamente a un epítipo en FcRn que es diferente de los epítopos unidos por los ligandos de FcRn naturales conocidos (es decir, albúmina sérica e IgG). Por lo tanto, este polipéptido (a) no interferiría (por ejemplo, no competiría) con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn.

Por lo tanto, en una realización preferida, tanto el al menos un polipéptido (a) como el al menos un polipéptido (b) comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden o consisten en ISVD.

En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

Si se utilizan las definiciones de CDR según Kabat, entonces en esta realización el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3,

respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 186. Si el polipéptido (a) está situado en el extremo N del antagonista de FcRn, entonces el ISVD puede comprender una mutación E1D. En este caso particular, el ISVD preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 187.

En una realización preferida, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186); y
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD), preferiblemente, en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 158 o 168, más preferiblemente SEQ ID NO: 158.

En una realización, el ISVD comprendido en el polipéptido (a) y el ISVD comprendido en el polipéptido (b) están unidos, preferiblemente mediante un enlazador 35GS como se define en el presente documento.

En otra realización, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor Fc (FcRn), como se define en el presente documento;
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn; y
- c) al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, opcionalmente unido a través de uno o más enlazadores, tales como enlazadores peptídicos, como se ha definido anteriormente, en donde dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes proporcionan el antagonista de la presente tecnología con mayor vida media (*in vivo*), en comparación con el antagonista correspondiente sin dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes ("fracción que prolonga la vida media (*in vivo*)" o "fracción que prolonga la vida media (HLE)"), como se describe en el presente documento,

en donde el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un ISVD, preferiblemente en donde el ISVD comprendido en el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso

esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 155, 156, y/o 157, incluso más preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en SEQ ID NO: 158 o 168, preferiblemente SEQ ID NO: 158.

5 En una realización, el al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión (c) adicional es un ISVD, por ejemplo un ISVD que se une a albúmina sérica humana (HSA), como se describe en el presente documento. Preferiblemente, el al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión (c) es un ISVD que se une a albúmina sérica humana y comprende una CDR1 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, una CDR2 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una CDR3 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21, o, utilizando la definición de Kabat, una
10 CDR1 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, una CDR2 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una CDR3 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18. Preferiblemente, el ISVD que se une a la albúmina sérica humana se puede seleccionar entre los ISVD de la Tabla 5. Más preferiblemente, el ISVD que se une a la albúmina sérica humana comprende o consiste en la SEQ ID NO: 58.

15 En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un ISVD, como se ha descrito anteriormente en esta descripción. Por lo tanto, en una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) se une específicamente a un epítipo en FcRn que es diferente de los epítopos unidos por los ligandos de FcRn naturales conocidos (es decir, albúmina
20 sérica e IgG). Por lo tanto, este polipéptido (a) no interferiría (por ejemplo, no competiría) con la unión de la región Fc de IgG1 de tipo salvaje a FcRn.

Por lo tanto, en una realización preferida, tanto el al menos un polipéptido (a) como el al menos un polipéptido (b) comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención comprenden o consisten en ISVD.

25 En una realización, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una CDR2 (numeración AbM)
30 que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

Si se utilizan las definiciones de CDR según Kabat, entonces en esta realización el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende 4 regiones marco (FR1
35 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

En una realización preferida, el al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un ISVD que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 186. Si el polipéptido (a) está situado en el extremo N del antagonista de FcRn, entonces el ISVD puede comprender una mutación E1D. En este caso particular, el ISVD preferiblemente comprende o consiste en la SEQ ID NO: 187.

Por tanto, en una realización preferida, el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo en el receptor Fc (FcRn), que comprende o consiste en un ISVD, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186);
- b) Al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, en donde el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD), preferiblemente en donde el ISVD comprendido en el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de SEQ ID NO: 155, 156, y/o 157, in cluso más preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en SEQ ID NO: 158 o 168, más preferiblemente SEQ ID NO: 158;
- c) al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, que es un ISVD, por ejemplo un ISVD que se une a albúmina sérica humana (HSA), preferiblemente en donde el ISVD se une a la albúmina sérica humana y se selecciona de los ISVD de la Tabla 5, preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 58.

Los tres componentes de los antagonistas de FcRn en esta realización (a, b y c) pueden estar unidos covalentemente entre sí directamente o mediante un enlazador. En una realización preferida, a), b) y c) están unidos covalentemente entre sí mediante un enlazador, preferiblemente un enlazador peptídico, tal como un enlazador como se muestra en la Tabla 4. Preferiblemente, el enlazador es un enlazador 35GS (véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 39). Por lo tanto, en una realización preferida, a), b) y c) están unidos entre sí mediante un enlazador 35GS (SEQ ID NO: 39).

En otra realización preferida, el antagonista de FcRn es TPP-122947, que comprende o consiste en:

T0263201B05(E1D)(SEQ ID NO: 158)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO. 186)-35GS-ALB23002 (SEQ ID NO. 58)-A.

En una realización preferida, el antagonista de FcRn comprende una alanina C-terminal.

Métodos para preparar los antagonistas de FcRn de la presente invención

Otra realización de la invención se refiere a un método para producir los antagonistas de FcRn de la presente invención. Como se ha descrito en detalle anteriormente, los antagonistas de FcRn según la presente invención comprenden al menos un primer polipéptido (a) que se une específicamente a un epítipo en el receptor Fc (FcRn) y al menos un segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn. Al menos ambos polipéptidos están comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención. El experto conoce los medios para unir dos polipéptidos para preparar los antagonistas de FcRn de la presente invención. Por ejemplo, el método puede comprender las etapas de:

a) proporcionar al menos un primer (a) y un segundo (b) polipéptido, como se ha descrito anteriormente;

b) unir ambos polipéptidos entre sí, directamente o mediante un enlazador, como se describe a continuación.

Por ejemplo, el método puede comprender las etapas de:

a) seleccionar al menos un primer y un segundo polipéptido, como se ha descrito anteriormente;

b) diseñar una construcción genética que codifique una secuencia de proteínas que comprende tanto el primer como el segundo polipéptido; y

c) introducir dicha construcción genética en un sistema de expresión para obtener los antagonistas de FcRn de la presente invención, como se ha descrito anteriormente en la presente memoria descriptiva.

En el contexto de la presente invención, la posición de cada uno de los polipéptidos ((a) y (b)) en los antagonistas de FcRn de la presente invención no está limitada. Por ejemplo, el primer polipéptido (a) puede estar situado en la parte *N*-terminal de los antagonistas de FcRn, mientras que el segundo polipéptido (b) puede estar situado en la parte *C*-terminal de los antagonistas de FcRn. Además, el primer polipéptido (a) puede estar situado en la parte *C*-terminal de los antagonistas de FcRn, mientras que el segundo polipéptido (b) puede estar situado en la parte *N*-terminal de los antagonistas de FcRn.

Además, el al menos un primer polipéptido (a) y el al menos un segundo polipéptido (b) pueden estar directamente unidos entre sí o unidos a través de un enlazador, tal como enlazadores peptídicos.

El uso de enlazadores para conectar dos o más (poli) péptidos es bien conocido en la técnica. Una clase de enlazador peptídico utilizado con frecuencia es el conocido como enlazador "Gly-Ser" o "GS". Se trata de enlazadores que consisten esencialmente en residuos de glicina (G) y serina (S), y suelen comprender una o más repeticiones de un motivo peptídico, tal como el motivo GGGGS (SEQ ID NO: 29) (por ejemplo, que presenta la fórmula (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_n en la que n puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más). Algunos ejemplos normalmente usados de dichos enlazadores GS son los enlazadores 9GS (GGGGSGGGGS, SEQ ID NO: 32), los enlazadores 15GS (n=3) y los enlazadores 35GS (n=7). Se hace referencia, por ejemplo, a Chen *et al.*, Adv. Drug Deliv. Rev. 15 de octubre de 2013; 65(10): 1357–1369; y Klein *et al.*, Protein Eng. Des. Sel. (2014) 27 (10): 325-330. En realizaciones particulares pero no limitantes,

el enlazador se elige del grupo formado por los enlazadores de 3A, 3GS, 5GS, 7GS, 9GS, 10GS, 15GS, 18GS, 20GS, 25GS, 30GS y 35GS (SEQ ID NO: 28 a 40).

Por ejemplo, cuando el al menos un segundo polipéptido (b) que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn comprendido en el antagonista de FcRn de la presente invención comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo, el dominio Fc o un fragmento del mismo puede comprender, en su parte *N*-terminal, una secuencia que comprende o consiste en parte de la región bisagra. La "**región bisagra**" es una secuencia corta de las cadenas pesadas (H) de anticuerpos que unen la región Fab (fragmento de unión a antígeno) a la región Fc (fragmento cristalizante). Por ejemplo, el dominio Fc o un fragmento del mismo puede comprender, en su parte *N*-terminal, una secuencia que comprende o consiste en una secuencia seleccionada de las SEQ ID NO: 41-44 y 66. En una realización preferida, el dominio Fc o un fragmento del mismo puede comprender, en su parte *N*-terminal, una secuencia que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 66.

En otras realizaciones, cuando el al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo en FcRn comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo, el dominio Fc o un fragmento del mismo puede comprender, en su parte *N*-terminal, una secuencia que comprende o consiste en parte de la región bisagra, como se ha descrito anteriormente.

En estas realizaciones, cuando el dominio Fc o un fragmento del mismo está situado en la parte C-terminal del antagonista de FcRn, el otro polipéptido (por ejemplo, el al menos un primer polipéptido (a) o el al menos un segundo polipéptido (b), respectivamente) estará situado en la parte *N*-terminal del antagonista de FcRn. En este caso, ambos polipéptidos pueden estar unidos directamente o mediante un enlazador, como se ha descrito anteriormente. Si están unidos mediante un enlazador, en una realización preferida, están unidos mediante la región bisagra comprendida en el dominio Fc o fragmento del mismo, preferiblemente que comprende o consiste en la SEQ ID NO: 66, como se ha descrito anteriormente.

En la realización específica donde el al menos un primer (a) o el al menos un segundo (b) polipéptidos comprendidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención es un dominio Fc dimérico (es decir, un dominio Fc que comprende dos polipéptidos, comprendiendo cada uno al menos un dominio CH2 y al menos un dominio CH3), el otro polipéptido comprendido en los antagonistas de FcRn puede estar unido (directamente o mediante un enlazador, como se describe a continuación) a la parte *N* o C-terminal de uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc dimérico. Por ejemplo, si el al menos un segundo polipéptido (b) es un dominio Fc dimérico, el al menos un primer polipéptido (a) puede estar unido (directamente o mediante un enlazador, como se describe más adelante) a la parte *N*-terminal de uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc dimérico, por ejemplo, a la región bisagra o parte de la misma de uno de los polipéptidos, véase, por ejemplo, la SEQ ID NO: 41-44 y 66. Por ejemplo, si el al menos un segundo polipéptido (b) es un dominio Fc dimérico, el al menos un primer polipéptido (a) puede estar unido (directamente o mediante un enlazador, como se describe más adelante) a la parte C-terminal de uno de los polipéptidos comprendidos en el dominio Fc dimérico, por ejemplo, a través de un enlazador peptídico, véanse, por ejemplo, las SEQ ID NO: 28 a 40. Véase la Figura 1, donde el al menos un segundo polipéptido (b) es un dominio Fc dimérico y el al menos un primer polipéptido (a) es un ISVD. En esta figura,

se muestran dos orientaciones del antagonista de FcRn. En el centro de la figura, el al menos un primer polipéptido (a) está situado en la parte N-terminal del antagonista de FcRn (de), y está unido a uno de los polipéptidos del dominio Fc dimérico a través de la región bisagra. En la parte derecha de la Figura, el primer polipéptido (a) está situado en la parte C-terminal del antagonista de FcRn, y está unido al dominio Fc (polipéptido (b)) a través de un enlazador peptídico (p. ej., véanse las SEQ ID NO: 28-40 en la Tabla 4).

Tabla 4: Secuencias enlazadoras ("ID" se refiere a la SEQ ID NO utilizada en el presente documento)

Nombre	ID	Secuencia de aminoácidos
Enlazador 3A	28	AAA
Enlazador 5GS	29	GGGGS
Enlazador 7GS	30	SGGSGGS
Enlazador 8GS	31	GGGSGGGS
Enlazador 9GS	32	GGGSGGGS
Enlazador 10GS	33	GGGSGGGGS
Enlazador 15GS	34	GGGSGGGGSGGGGS
Enlazador 18GS	35	GGGSGGGGSGGGGSGGS
Enlazador 20GS	36	GGGSGGGGSGGGGSGGGGS
Enlazador 25GS	37	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
Enlazador 30GS	38	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
Enlazador 35GS	39	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
Enlazador 40GS	40	GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
Bisagra G1	41	EPKSCDKTHTCPPCP
Bisagra 9GS-G1	42	GGGSGGGSEPKSCDKTHTCPPCP
Región de bisagra larga superior de llama	43	EPKTPKPQAAA
Bisagra G3	44	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP
Bisagra G1 corta	66	DKTHTCPPCP

Proteína de fusión

La presente invención proporciona además una proteína de fusión que comprende los antagonistas de FcRn de la presente invención. La proteína de fusión de la presente invención puede comprender, además de los antagonistas de FcRn, otros grupos, residuos, fracciones o unidades de unión.

Por ejemplo, dichos grupos, residuos, fracciones o unidades de unión adicionales pueden ser una o más inmunoglobulinas adicionales, para formar una proteína (de fusión) (la proteína de fusión de la presente invención). En un aspecto preferido pero no limitante, el uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes son ISVD. Aún más preferiblemente, el uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes se eligen del grupo que consiste en anticuerpos de dominio,

ISVD que son adecuados para su uso como anticuerpo de dominio, anticuerpos de dominio único, ISVD que son adecuados para su uso como un anticuerpo de dominio único, "dAb", ISVD que son adecuados para su uso como dAb, V_{HH}, V_{HH} humanizadas, V_H camelizadas o V_{HH} de Nanobody®. Como alternativa, dichos grupos, residuos, residuos o unidades de unión pueden ser, por ejemplo, grupos químicos, residuos, fracciones, que pueden o pueden no ser por sí mismos biológica y/o farmacológicamente activos. Por ejemplo, y sin limitación, dichos grupos pueden unirse a los antagonistas de FcRn de la invención, como se describe más detalladamente en el presente documento. Una proteína de fusión de la invención también puede incluir grupos adicionales con ciertas funcionalidades, tales como un marcador, una toxina, uno o más enlazadores, una secuencia de unión, etc. Estas funcionalidades adicionales incluyen tanto grupos basados en aminoácidos como grupos no basados en aminoácidos.

Por lo tanto, en una realización, la proteína de fusión de la presente invención puede comprender además (además de los antagonistas de FcRn de la presente invención), uno o más ISVD. Preferiblemente, el ISVD puede ser un ISVD HLE, un ISVD dirigido o un ISVD terapéutico. El uno o más ISVD que pueden estar comprendidos además (además del que puede estar comprendido como el primer polipéptido (a) en los antagonistas de FcRn de la presente invención) en la proteína de fusión de la presente invención pueden así formar una proteína de fusión "multivalente" o "multiespecífica".

Los polipéptidos que comprenden dos o más ISVD (tales como el que puede estar comprendido como el primer polipéptido (a) en los antagonistas de FcRn de la presente invención, y uno o más ISVD adicionales) se denominarán en el presente documento "**proteínas de fusión multivalentes**" o "**construcciones multivalentes**", y estos pueden proporcionar ciertas ventajas en comparación con el polipéptido monovalente correspondiente. Generalmente, las proteínas o polipéptidos que comprenden un único ISVD (tales como los antagonistas de FcRn de la invención) se denominarán en el presente documento proteínas "**monovalentes**" o "**construcciones monovalentes**".

Como también se describe en el presente documento, las proteínas multivalentes de la invención pueden ser, por ejemplo, sin limitación, construcciones multiespecíficas (tales como biespecíficas o triespecíficas) o multiparatópicas (tales como biparatópicas) (o pueden ser tanto multiparatópicas como multiespecíficas), y pueden ser, por ejemplo, construcciones que comprenden al menos dos dominios de unión o unidades de unión que están dirigidos cada uno hacia un epítipo diferente en la misma subunidad, construcciones que comprenden al menos dos dominios de unión o unidades de unión que tienen, cada una, una función biológica diferente (por ejemplo un dominio de unión que puede bloquear o inhibir la interacción receptor-ligando, y un dominio de unión que no bloquea ni inhibe la interacción receptor-ligando), o construcciones que comprenden al menos dos dominios de unión o unidades de unión que están dirigidas, cada una, hacia una diana diferente.

Para una descripción general de polipéptidos multivalentes y multiespecíficos que contienen uno o más ISVD y su preparación, también se hace referencia a Conrath *et al.*, J. Biol. Chem., Vol. 276, 10. 7346-7350, 2001; Muyldermans, Reviews in Molecular Biotechnology 74 (2001), 277-302; así como a, por ejemplo, los documentos WO 96/34103, WO 99/23221, WO 04/041862, WO 2006/122786, WO 2008/020079, WO 2008/142164 o WO 2009/068627.

La proteína de fusión de la invención generalmente se puede preparar mediante un método que comprende al menos una etapa de unir adecuadamente los antagonistas de FcRn de la presente invención a uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión adicionales, ya sea directamente o mediante uno o más enlazadores adecuados, como se describe en el presente documento.

5 Las proteínas de fusión de la invención también se pueden preparar mediante un método que generalmente comprende al menos las etapas de proporcionar un ácido nucleico que codifica la proteína de fusión de la invención, expresar dicho ácido nucleico de una manera adecuada y recuperar el polipéptido expresado de la invención. Tales métodos se pueden realizar de una manera en sí misma conocida, que quedará clara para el experto, por ejemplo basándose en los métodos y técnicas que se describen con más
10 detalle en el presente documento.

Se apreciará que el orden del antagonista de FcRn y otros grupos, residuos, fracciones o unidades de unión, si están presentes, en la proteína de fusión de la invención se puede elegir según las necesidades del experto en la técnica, así como las afinidades relativas que pueden depender de la ubicación del antagonista de FcRn y otros grupos, residuos, fracciones o unidades de unión, si están presentes, en la
15 proteína de fusión. Si la proteína de fusión comprende uno o más enlazadores para interconectar el antagonista de FcRn y opcionalmente otros grupos, residuos, fracciones o unidades de unión es una cuestión de elección de diseño. Sin embargo, algunas orientaciones, con o sin enlazadores, pueden proporcionar características de unión preferidas en comparación con otras orientaciones. La invención abarca todas las diferentes orientaciones posibles.

20 Por ejemplo, la secuencia de la proteína de fusión de la presente invención puede comprender uno o más ISVD, unidos entre sí directamente o mediante un enlazador, como se define en el presente documento, seguidos de los antagonistas de FcRn de la presente invención, directamente unidos a uno o más ISVD o enlazados mediante un enlazador, tal como se define en el presente documento. En esta realización, el uno o más ISVD estarían situados en la región *N*-terminal de la proteína de fusión, mientras
25 que la proteína quimérica estaría situada en la región *C*-terminal de la proteína de fusión.

Por ejemplo, la secuencia de la proteína de fusión de la presente invención puede comprender los antagonistas de FcRn de la presente invención seguidos de uno o más ISVD, unidos entre sí directamente o mediante un enlazador, directamente unidos a los antagonistas de FcRn de la invención, o unidos por medio de un enlazador, como se define en el presente documento. En esta realización, el uno o más ISVD
30 estarían situados en la región *C*-terminal de la proteína de fusión, mientras que el antagonista de FcRn estaría situado en la región *N*-terminal de la proteína de fusión.

Por ejemplo, la proteína de fusión de la presente invención puede comprender adicionalmente un grupo, residuo, fracción o unidad de unión que proporciona a los antagonistas de FcRn de la presente invención una **vida media aumentada (*in vivo*)** en comparación con el antagonista de FcRn
35 correspondiente sin dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes ("fracción que prolonga la vida media (*in vivo*)" o "fracción que prolonga la vida media (HLE)").

Por lo tanto, en algunas realizaciones el antagonista de FcRn de la presente invención comprende:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor de Fc (FcRn);
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn; y

c) al menos un grupo, residuo, fracción o unidad de unión adicional, opcionalmente unido a través de uno o más enlazadores, tales como enlazadores peptídicos, como se ha definido anteriormente, en donde dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes proporcionan la molécula de la presente tecnología con mayor vida media (*in vivo*), en comparación con la molécula correspondiente sin dicho uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes ("fracciones que prolongan la vida media (*in vivo*)" o "fracciones que prolongan la vida media (HLE)"), como se define en el presente documento.

El término "vida media" como se utiliza en el presente documento generalmente se puede definir como se describe en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079 y como se menciona en el mismo se refiere al tiempo necesario para que la concentración sérica del compuesto o polipéptido se reduzca en un 50 %, *in vivo*, por ejemplo debido a la degradación de la secuencia o compuesto y/o eliminación o secuestro de la secuencia o compuesto por mecanismos naturales. La vida media *in vivo* del antagonista de FcRn de la presente invención se puede determinar de cualquier manera en sí misma conocida, tal como mediante análisis farmacocinético. Las técnicas adecuadas quedarán claras para el experto en la técnica y, por ejemplo, pueden ser, en general, las descritas en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079. Como también se menciona en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079, la vida media se puede expresar usando parámetros tales como $t_{1/2}$ -alfa, $t_{1/2}$ -beta y el área bajo la curva (AUC). A este respecto, cabe señalar que el término "vida media", como se utiliza en el presente documento, se refiere en particular a $t_{1/2}$ -beta o vida media terminal (en donde $t_{1/2}$ -alfa y/o AUC o ambos pueden quedar fuera de consideración). Se hace referencia, por ejemplo, a los manuales estándar, tales como Kenneth, A *et al*: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists and Peters *et al*, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996). También se hace referencia a "Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, publicado por Marcel Dekker, 2ª edición revisada (1982). De manera similar, las expresiones "aumento de la vida media" o "vida media aumentada" también son como se definen en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 2008/020079 y, en particular, se refieren a un aumento en $t_{1/2}$ -beta, con o sin un aumento en $t_{1/2}$ -alfa y/o el AUC o ambos.

La vida media (*in vivo*) se puede prolongar mediante un aumento en el radio (tamaño) hidrodinámico o mediante una disminución en la eliminación de la molécula. Por ejemplo, las fracciones que prolongan la vida media (*in vivo*), tales como el polietilenglicol o los polipéptidos ELNN, aumentan el tamaño de las moléculas a las que están unidos, evitando de este modo la eliminación renal y aumentando de este modo la vida media de esas moléculas. Otras fracciones que prolongan la vida media (*in vivo*), tales como unidades de unión que pueden unirse, por ejemplo, a la albúmina sérica, aumentan la vida media de las moléculas a las que están unidas mediante la unión, por ejemplo, a la albúmina sérica. La albúmina es la proteína plasmática más abundante, es altamente soluble, muy estable y tiene una vida media circulatoria extraordinariamente larga como resultado directo de su tamaño e interacción con la vía

de reciclaje mediada por FcRn; véase, por ejemplo, Sleep D. *et al.*, "Albumin as a versatile platform for drug half-life extension", *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(12):5526-34.

Más específicamente, dichos uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes que proporcionan al antagonista de FcRn de la presente invención una vida media aumentada se pueden elegir del grupo que consiste en una molécula de polietilenglicol (PEG), polipéptidos ELNN o fragmentos del mismo, unidades de unión que pueden unirse a la albúmina sérica, tal como la albúmina sérica humana. En una realización, dichos uno o más grupos, residuos, fracciones o unidades de unión diferentes que proporcionan a la molécula de la presente tecnología una vida media aumentada son una unidad de unión que puede unirse a la albúmina sérica humana. En una realización, la unidad de unión es un ISVD.

Por ejemplo, la fracción HLE es un ISVD, por ejemplo un ISVD que se une a albúmina sérica humana (HSA). Por ejemplo, el documento WO 2004/041865 describe la unión de ISVD a la albúmina sérica (y en particular contra HSA) que puede usarse para aumentar la vida media de los antagonistas de FcRn de la presente invención.

La solicitud internacional WO 2006/122787, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia, describe una serie de ISVD contra albúmina sérica (humana). Estos ISVD incluyen los ISVD denominados Alb-1 (SEQ ID NO:52 en el documento WO 2006/122787) y variantes humanizadas del mismo, tales como Alb-8 (SEQ ID NO: 62 en el documento WO 2006/122787). Nuevamente, estos pueden usarse para prolongar la vida media de los antagonistas de FcRn de la presente invención.

El documento WO 2012/175400, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia, describe otra versión mejorada de Alb-1, denominada Alb-23.

En una realización, la proteína de fusión de la presente invención comprende una fracción de unión a albúmina sérica seleccionada entre Alb-1, Alb-3, Alb-4, Alb-5, Alb-6, Alb-7, Alb-8, Alb-9, Alb-10 (descritas en el documento WO 2006/122787) y Alb-23. En una realización, la fracción de unión a albúmina sérica es Alb-8 o Alb-23 o sus variantes, como se muestra en las páginas 7-9 del documento WO 2012/175400. En una realización, la fracción de unión a albúmina sérica se selecciona de los agentes de unión a albúmina descritos en los documentos WO 2012/175741, WO 2015/173325, WO 2017/080850, WO 2017/085172, WO 2018/104444, WO 2018/134235 y WO 2018/134234, cuyo contenido se incorpora en el presente documento por referencia. También se muestran en la Tabla 5 a continuación algunos agentes de unión a albúmina sérica.

En una realización, la molécula de la presente tecnología comprende una fracción de HLE como se describe en el siguiente punto A:

A. Un ISVD de unión a albúmina sérica humana y comprende

i. una CDR1 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 (GFTFRSFGMS) o una secuencia de aminoácidos con 2 o 1 diferencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 19;

ii. una CDR2 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 (SIGSGSDDL) o una secuencia de aminoácidos con 2 o 1 diferencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 20; y

iii. una CDR3 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 (GGSLSR) o una secuencia de aminoácidos con 2 o 1 diferencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 21.

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19, una CDR2 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una CDR3 (Abm) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21.

El punto A también se puede describir utilizando la definición de CDR de Kabat como:

A'. Un ISVD que se une a la albúmina sérica humana y comprende

i. una CDR1 que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 (SFGMS) o una secuencia de aminoácidos con 2 o 1 diferencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 16;

ii. una CDR2 que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 (SISGSGSDTLYADSVKG) o una secuencia de aminoácidos con 2 o 1 diferencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 17; y

iii. una CDR3 que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 (GGSLSR) o una secuencia de aminoácidos con 2 o 1 diferencias de aminoácidos con SEQ ID NO: 18.

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16, una CDR2 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una CDR3 (Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18.

Ejemplos de un ISVD de este tipo que se une a la seroalbúmina humana tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para la construcción ALB23002 (SEQ ID NO: 58) en las Tablas B-1 y B-2 (además de las CDR como se define en el punto A y el punto A' anteriores). En una realización, es un ISVD que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de la construcción ALB23002 (SEQ ID NO: 58).

Tabla B-1: Secuencias de CDR de acuerdo con CDR de AbM y anotación de marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	VH	ID	FR 1	ID	CDR 1	ID	FR 2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR 3	ID	FR 4
58	ALB23002	170	EV QL VE SG GG VV QP GG SL RL SC AA S	19	GFT FRS FG MS	171	WV RQ AP GK GP EW VS	20	SISGS GSDTL	172	YADSV KGRFTI SRDNS KNTLYL QMNSL RPEDT ALYYCT I	21	GGSLSR	173	SS Q GT LV TV SS

Tabla B-2: Secuencias de las CDR de acuerdo con CDR de Kabat y anotación de marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR 1	ID	CDR 1	ID	FR2	ID	CDR 2	ID	FR3	ID	CDR 3	ID	FR4
58	AL B2 300 2	17 4	EV QL VE SG GG VV QP GG SL RL SC AA SG FT FR	16	SFG MS	171	WVR QAP GKG PEW VS	17	SISG SGS DTL YAD SVK G	175	RFTI SRD NSK NTL YLQ MNS LRP EDT ALY YCTI	18	GG LSR	173	SSQ GTL VTV SS

En una realización, la proteína de fusión de la presente invención comprende la fracción de unión a albúmina sérica Alb23 (SEQ ID NO: 46) como se define en la Tabla 5 a continuación. En una realización preferida, la proteína de fusión de la presente invención comprende la fracción de unión a albúmina sérica Alb23002 (SEQ ID NO: 58) as defined in Table 5 below. En otra realización preferida, la proteína de fusión de la presente invención comprende la fracción de unión a albúmina sérica Alb23002(E1D) (SEQ ID NO: 60) as defined in Table 5 below.

Los ejemplos de un ISVD de este tipo que se une a la albúmina sérica humana tienen una o más, o todas las regiones marco indicadas para la construcción ALB23002 en la Tabla 5 (además de las CDR definidas en el punto A y el punto A' anteriores). En una realización, es un ISVD que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de la construcción ALB23002 (SEQ ID NO:58; véase también la Tabla 5).

También en otra realización, la secuencia de aminoácidos de un ISVD que se une a la seroalbúmina humana puede tener una identidad de secuencia de más del 90 %, tal como más del 95 % o más del 99 %, con SEQ ID NO: 58, en donde las CDR son como se definen en el punto A o A' anterior. En una realización, el ISVD que se une a la seroalbúmina humana comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58.

Cuando dicho ISVD que se une a la seroalbúmina humana tiene 2 o 1 aminoácidos de diferencia en al menos una CDR en relación con una secuencia CDR de referencia correspondiente (punto A o A' anterior), el ISVD tiene al menos la mitad de afinidad de unión, o al menos la misma afinidad de unión, a la seroalbúmina humana en comparación con la construcción ALB23002 (SEQ ID NO: 58), en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como SPR.

Tabla 5: Secuencias del ISVD de unión a seroalbúmina ("ID" se refiere a la SEQ ID NO como se utiliza en el presente documento)

Nombre	ID	Secuencia de aminoácidos
Alb8	45	EVQLVESGGGLVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb23	46	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb129	47	EVQLVESGGGVVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTATYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSSA
Alb132	48	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTATYYCTI GGSLSRSSQGTTLVTVSSA
Alb11	49	EVQLVESGGGLVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb11(S11 2K)-A	50	EVQLVESGGGLVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIG GSLSRSSQGTTLVKVSSA
Alb82	51	EVQLVESGGGVVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSS
Alb82-A	52	EVQLVESGGGVVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSSA
Alb82-AA	53	EVQLVESGGGVVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSSAA
Alb82- AAA	54	EVQLVESGGGVVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSSAAA
Alb82-G	55	EVQLVESGGGVVQPGNLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTTLVTVSSG

5	Alb82-GG	56	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTLLTVSSGG
	Alb82- GGG	57	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWV SSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIG GSLSRSSQGTLLTVSSGGG
	Alb23002	58	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTI GGSLSRSSQGTLLTVSS
10	Alb223	59	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTI GGSLSRSSQGTLLTVSSA
15	Alb23002(E1D)	60	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEW VSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCTI GGSLSRSSQGTLLTVSS

La proteína de fusión de la presente invención puede comprender adicionalmente (además del antagonista de FcRn) una o más fracciones de direccionamiento. Una "**fracción de direccionamiento**", como se define en el presente documento, es cualquier grupo, residuo, fracción o unidad de unión que es capaz de dirigirse a través de su unión a una diana.

Además, la proteína de fusión de la presente invención puede comprender adicionalmente una o más fracciones terapéuticas. Una "**fracción terapéutica**", como se define en el presente documento, es cualquier grupo, residuo, fracción o unidad de unión que es capaz de ejercer una actividad terapéutica en el cuerpo de un animal y/o humano. La fracción terapéutica también puede estar en forma de precursor, que a continuación se activa para ejercer su actividad terapéutica.

Moléculas de ácido nucleico

La presente invención también proporciona una molécula de ácido nucleico que codifica los antagonistas de FcRn o la proteína de fusión de la presente invención.

Una "*molécula de ácido nucleico*" (utilizado indistintamente con "*ácido nucleico*") es una cadena de monómeros de nucleótidos unidos entre sí a través de una cadena principal de fosfato para formar una secuencia de nucleótidos. Un ácido nucleico puede utilizarse para transformar/transfectar una célula hospedadora u organismo hospedador, por ejemplo, para la expresión y/o producción de un polipéptido. Los hospedadores o células hospedadoras (no humanas) adecuados con fines de producción serán evidentes para el experto, y pueden ser, por ejemplo, cualquier célula o línea celular fúngica, procariota o eucariota adecuada o cualquier organismo fúngico, procariota o eucariota adecuado. La presente invención también abarca un hospedador o una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico que codifica el componente esencial del portador basado en proteína y/o la molécula (o parte de la molécula) de la presente invención.

Un ácido nucleico puede ser, por ejemplo, ADN, ARN o un híbrido de los mismos, y también puede comprender nucleótidos modificados (por ejemplo, químicamente), tales como PNA. Puede ser monocatenario o bicatenario. En una forma de realización, se encuentra en forma de ADN bicatenario. Por ejemplo, las secuencias de nucleótidos de la presente invención pueden ser ADN genómico, ADNc.

Los ácidos nucleicos de la presente invención pueden prepararse u obtenerse de una manera por sí misma conocida, y/o pueden aislarse de una fuente natural adecuada. Las secuencias de nucleótidos que codifican (poli) péptidos de origen natural pueden, por ejemplo, someterse a mutagénesis dirigida al sitio, a fin de proporcionar una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido con variación de secuencia. Además, como quedará claro para el experto, para preparar un ácido nucleico, también pueden unirse de manera adecuada varias secuencias de nucleótidos, tales como al menos una secuencia de nucleótidos que codifica una fracción de direccionamiento y, por ejemplo, ácidos nucleicos que codifican uno o más enlazadores.

Las técnicas para generar ácidos nucleicos serán evidentes para el experto y pueden incluir, por ejemplo, pero sin limitación, síntesis automatizada de ADN; mutagénesis dirigida al sitio; combinación de dos o más secuencias naturales y/o sintéticas (o dos o más partes de las mismas), introducción de mutaciones que dan lugar a la expresión de un producto de expresión truncado; introducción de uno o más sitios de restricción (por ejemplo, para crear casetes y/o regiones que puedan digerirse y/o ligarse fácilmente utilizando enzimas de restricción adecuadas) y/o introducción de mutaciones mediante una reacción de PCR utilizando uno o más cebadores "no coincidentes".

Vectores

También se proporciona un vector que comprende la molécula de ácido nucleico que codifica antagonistas de FcRn o una proteína de fusión de la presente invención.

Un vector, como se utiliza en el presente documento, es un vehículo adecuado para transportar material genético a una célula. Un vector incluye ácidos nucleicos desnudos, tales como plásmidos o ARNm, o ácidos nucleicos embebidos en una estructura mayor, tales como liposomas o vectores víricos.

En algunas realizaciones, los vectores comprenden al menos un ácido nucleico que está opcionalmente unido a uno o más elementos reguladores, tales como por ejemplo uno o más promotor(es), potenciador(es), terminador(es) adecuado(s), etc.). En una realización, el vector es un vector de expresión, es decir, un vector adecuado para expresar un polipéptido o construcción codificada en condiciones adecuadas, por ejemplo, cuando el vector se introduce en una célula (p. ej., humana). Los vectores basados en ADN incluyen la presencia de elementos para la transcripción (por ejemplo, un promotor y una señal de poliA) y la traducción (por ejemplo, secuencia de Kozak).

En una realización, en el vector, dicho al menos un ácido nucleico y dichos elementos reguladores están "unidos operativamente" entre sí, por lo que generalmente se entiende que están en una relación funcional entre sí. Por ejemplo, se considera que un promotor está "unido operativamente" a una secuencia codificante si dicho promotor es capaz de iniciar o controlar/regular de otro modo la transcripción y/o la expresión de una secuencia codificante (en cuyo caso debe entenderse que dicha secuencia codificante está "bajo el control de" dicho promotor). Generalmente, cuando dos secuencias de nucleótidos están

unidas operativamente, estarán en la misma orientación y normalmente también en el mismo marco de lectura. Por lo general, también serán esencialmente contiguas, aunque esto también puede no ser necesario.

En una realización, cualquier elemento regulador del vector es tal que es capaz de proporcionar su función biológica prevista en la célula hospedadora u organismo hospedador previsto.

Por ejemplo, un promotor, potenciador o terminador debe ser "operable" en la célula hospedadora u organismo hospedador previsto, lo que significa que, por ejemplo, dicho promotor debe ser capaz de iniciar o controlar/regular de otro modo la transcripción y/o la expresión de una secuencia de nucleótidos, por ejemplo, una secuencia codificante, a la que está unido operativamente.

La célula hospedadora de la presente invención

Los ácidos nucleicos de la invención y/o las construcciones genéticas de la invención (ácidos nucleicos de la invención) se pueden usar para transformar una célula hospedadora u organismo hospedador, es decir, para la expresión y/o producción de los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención. El hospedador es preferiblemente un hospedador no humano. Los hospedadores o células hospedadoras adecuados serán evidentes para el experto y pueden ser, por ejemplo, cualquier célula o línea celular fúngica, procariota o eucariota adecuada o cualquier organismo fúngico, procariota o eucariota adecuado, por ejemplo: una cepa bacteriana, incluyendo, pero sin limitación, cepas gramnegativas tales como cepas de *Escherichia coli*; de *Proteus*, por ejemplo de *Proteus mirabilis*; de *Pseudomonas*, por ejemplo, de *Pseudomonas fluorescens*; y cepas grampositivas tales como cepas de *Bacillus*, por ejemplo de *Bacillus subtilis* o de *Bacillus brevis*; de *Streptomyces*, por ejemplo de *Streptomyces lividans*; de *Staphylococcus*, por ejemplo de *Staphylococcus carnosus*; y de *Lactococcus*, por ejemplo de *Lactococcus lactis*; una célula fúngica, incluyendo, pero sin limitación, células de especies de *Trichoderma*, por ejemplo de *Trichoderma reesei*; de *Neurospora*, por ejemplo de *Neurospora crassa*; de *Sordaria*, por ejemplo de *Sordaria macrospora*; de *Aspergillus*, por ejemplo, de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus sojae*; o de otros hongos filamentosos; una célula de levadura, incluyendo, pero sin limitación, células de especies de *Saccharomyces*, por ejemplo de *Saccharomyces cerevisiae*; de *Schizosaccharomyces*, por ejemplo de *Schizosaccharomyces pombe*; de *Pichia*, por ejemplo de *Pichia pastoris* o de *Pichia methanolica*; de *Hansenula*, por ejemplo de *Hansenula polymorpha*; de *Kluyveromyces*, por ejemplo de *Kluyveromyces lactis*; de *Arxula*, por ejemplo de *Arxula adenivorans*; de *Yarrowia*, por ejemplo de *Yarrowia lipolytica*; una célula o línea celular anfibia, tal como ovocitos *Xenopus*; una célula o línea celular derivada de insectos, tal como células/líneas celulares derivadas de lepidópteros, incluyendo, pero sin limitación, células *Spodoptera* SF9 y Sf21 o células/líneas celulares derivadas de *Drosophila*, tales como células Schneider y Kc; una planta o célula vegetal, por ejemplo, en plantas de tabaco; y/o una célula o línea celular de mamífero, por ejemplo, una célula o línea celular derivada de un ser humano, una célula o una línea celular de mamíferos que incluyen, pero sin limitación, células CHO, células BHK (por ejemplo, células BHK-21) y células humanas o líneas celulares tales como células HeLa, COS (por ejemplo, COS-7) y PER.C6; así como todos los demás hospedadores o células hospedadoras conocidas en sí para la expresión y producción de anticuerpos y fragmentos de anticuerpo (incluyendo, pero sin limitación, anticuerpos de

dominio (único) y fragmentos scFv), que serán evidentes para el experto. También se hace referencia a los antecedentes generales citados anteriormente, así como, por ejemplo, a los documentos WO 94/29457; WO 96/34103; WO 99/42077; Frenken *et al.* 1998 (Res. Immunol. 149: 589-99); Riechmann y Muyldermans 1999 (J. Immunol. Met. 231: 25-38); Van der Linden 2000 (J. Biotechnol. 80: 261-70); Joosten *et al.* 2003 (Microb. Cell Fact. 2: 1); Joosten *et al.* 2005 (Appl. Microbiol. Biotechnol. 66: 384-92); y las referencias adicionales mencionadas en el presente documento.

Para la expresión de los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión en una célula, también se pueden expresar como los denominados "intracuerpos", como se describe, por ejemplo, en los documentos WO 94/02610, WO 95/22618 y US 7004940; WO 03/014960; en Cattaneo y Biocca 1997 (Intracellular Antibodies: Development and Applications. Landes y Springer-Verlag); y en Kontermann 2004 (Methods 34: 163-170).

Según una realización preferida, pero no limitante, de la invención, los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención se producen en una célula bacteriana, en particular una célula bacteriana adecuada para la producción farmacéutica a gran escala, tal como células de las cepas mencionadas anteriormente.

Según otra realización preferida, pero no limitante, de la invención, los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención se producen en una célula de levadura, en particular una célula de levadura adecuada para la producción farmacéutica a gran escala, tal como células de las especies mencionadas anteriormente.

Según otra realización preferida, pero no limitante, de la invención, los antagonistas de FcRn y/o las proteínas de fusión de la invención se producen en una célula de mamífero, en particular en una célula humana o en una célula de una línea celular humana y, más en particular, en una célula humana o en una célula de una línea celular humana que sea adecuada para la producción farmacéutica a gran escala, tal como las líneas celulares mencionadas anteriormente en el presente documento.

Las técnicas adecuadas para transformar un hospedador o una célula hospedadora de la invención serán claras para el experto y pueden depender de la célula hospedadora/organismo hospedador previsto y de la construcción genética que se va a utilizar. Se hace nuevamente referencia a los manuales y solicitudes de patente mencionados anteriormente.

Después de la transformación, se puede realizar una etapa para detectar y seleccionar aquellas células hospedadoras u organismos hospedadores que se han transformado exitosamente con la secuencia de nucleótidos/construcción genética de la invención. Esto puede ser, por ejemplo, una etapa de selección basada en un marcador seleccionable presente en la construcción genética de la invención o una etapa que implica la detección del polipéptido de la invención, por ejemplo, usando anticuerpos específicos.

La célula hospedadora transformada (que puede estar en la forma de una línea celular estable) o los organismos hospedadores (que pueden estar en la forma de una línea o cepa mutante estable) forman aspectos adicionales de la presente invención.

Preferiblemente, estas células hospedadoras u organismos hospedadores son tales que expresan, o son (al menos) capaces de expresar (por ejemplo, en condiciones adecuadas), los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención (y en el caso de un organismo hospedador: en al menos una célula, parte, tejido u órgano del mismo). La invención también incluye generaciones adicionales, la progenie y/o descendencia de la célula hospedadora u organismo hospedador de la invención, por ejemplo obtenidos mediante división celular o mediante reproducción sexual o asexual.

Por consiguiente, en otro aspecto, la invención se refiere a un hospedador o célula hospedadora que expresa (o que bajo circunstancias adecuadas es capaz de expresar) los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención; y/o que contiene un ácido nucleico que los codifica. Algunos ejemplos preferidos pero no limitantes de tales hospedadores o células hospedadoras pueden ser los descritos generalmente en los documentos WO 04/041867, WO 04/041865 o WO 09/068627. Por ejemplo, los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención pueden expresarse, producirse o fabricarse con ventaja en células de mamífero, tales como células de hámster chino Overy (células CHO), o en una cepa de levadura adecuada, tal como una cepa de *Pichia pastoris*. También se hace referencia a los documentos WO 04/25591, WO 10/125187, WO 11/003622 y WO 12/056000, que también describen la expresión/producción en *Pichia* y otros hospedadores/células hospedadoras de dominios variables únicos de inmunoglobulina y polipéptidos que los comprenden.

Para producir/obtener la expresión de los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención, la célula hospedadora transformada u organismo hospedador transformado generalmente puede conservarse, mantenerse y/o cultivarse en condiciones tales que se expresan/producen los antagonistas de FcRn (deseados) y/o proteínas de fusión de la invención. Las condiciones adecuadas serán claras para el experto y normalmente dependerán de la célula hospedadora/organismo hospedador utilizado, así como de los elementos reguladores que controlan la expresión de la secuencia de nucleótidos (relevante) de la invención. Nuevamente, se hace referencia a los manuales y solicitudes de patente mencionados anteriormente en los párrafos sobre las construcciones genéticas de la invención.

Generalmente, las condiciones adecuadas pueden incluir el uso de un medio adecuado, la presencia de una fuente adecuada de alimento y/o nutrientes adecuados, el uso de una temperatura adecuada y, opcionalmente, la presencia de un factor o compuesto inductor adecuado (por ejemplo, cuando las secuencias de nucleótidos de la invención están bajo el control de un promotor inducible); todos los cuales pueden ser seleccionados por el experto. Nuevamente, en tales condiciones, los antagonistas de FcRn y/o las proteínas de fusión de la invención pueden expresarse de manera constitutiva, de manera transitoria o solo cuando se inducen adecuadamente.

También quedará claro para el experto que los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención pueden (primero) generarse en una forma inmadura (como se ha mencionado anteriormente), que luego puede someterse a modificación postraduccional, dependiendo de la célula hospedadora/organismo hospedador utilizado. Además, los antagonistas de FcRn y/o las proteínas de fusión de la invención pueden estar glicosilados, de nuevo dependiendo de la célula hospedadora/organismo hospedador utilizado.

Los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención pueden luego aislarse de la célula hospedadora/organismo hospedador y/o del medio en el que se cultivó dicha célula hospedadora u organismo hospedador, usando técnicas de aislamiento y/o purificación de proteínas en si mismas conocidas, tales como técnicas de cromatografía (preparativa) y/o electroforesis, técnicas de precipitación diferencial, técnicas de afinidad (por ejemplo, usando una secuencia de aminoácidos escindible específica fusionada con el polipéptido o construcción de la invención) y/o técnicas inmunológicas preparativas (es decir, usando anticuerpos contra la secuencia de aminoácidos a aislar).

Se considera que un ácido nucleico o un aminoácido está "*(en) (forma) esencialmente aislado(a)*", por ejemplo, en comparación con su fuente biológica nativa y/o el medio de reacción o el medio de cultivo del que se ha obtenido, cuando se ha separado de al menos otro componente con el que suele estar asociado en dicha fuente o medio, tal como otra proteína/polipéptido, otro componente biológico o macromolécula o al menos un contaminante, impureza o componente menor. En particular, un polipéptido o proteína se considera "esencialmente aislado" cuando se ha purificado al menos 2 veces, en particular al menos 10 veces, más en particular al menos 100 veces, y hasta 1000 veces o más. Un polipéptido o proteína que está "en forma esencialmente aislada" es preferiblemente esencialmente homogéneo, según se determina utilizando una técnica adecuada, tal como una técnica cromatográfica adecuada, tal como la electroforesis en gel de poliacrilamida.

Composiciones

La invención también se refiere a una composición que comprende los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención. La composición puede ser una composición farmacéutica. La composición puede comprender además al menos un vehículo, diluyente o excipiente y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente comprender uno o más polipéptidos y/o compuestos farmacéuticamente activos adicionales.

En los métodos anteriores, los antagonistas de FcRn y/o las proteínas de fusión se pueden administrar de cualquier manera adecuada, dependiendo de la formulación o composición farmacéutica específica que se vaya a utilizar. Por tanto, los antagonistas de FcRn y/o proteínas de fusión de la invención y/o las composiciones que los comprenden pueden administrarse, por ejemplo, por vía oral, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intramuscular o mediante cualquier otra vía de administración que evite el tracto gastrointestinal, por vía intranasal, por vía transdérmica, tópica, mediante un supositorio, por inhalación, dependiendo nuevamente de la formulación o composición farmacéutica específica que se va a utilizar. El médico podrá seleccionar una vía de administración adecuada y una formulación o composición farmacéutica adecuada para su uso en dicha administración, dependiendo de la enfermedad o trastorno que se va a prevenir o tratar y de otros factores bien conocidos por el médico.

Se puede administrar a un sujeto una cantidad eficaz de una molécula como se describe, o una composición que comprende la molécula de la presente invención, para proporcionar los resultados de tratamiento deseados.

Como se usa en el presente documento, el término "terapia" se refiere a cualquier protocolo, método y/o agente que pueda usarse en el tratamiento, prevención y/o manejo de una enfermedad y/o

trastorno, o sus síntomas. En determinadas realizaciones, los términos "terapias" y "terapia" se refieren a una terapia biológica, terapia de apoyo y/u otras terapias útiles en el tratamiento, prevención y/o manejo de una enfermedad y/o trastorno, o uno o más síntomas de los mismos conocidos por un experto en la técnica, tal como personal médico.

5 Como se usan en el presente documento, los términos "tratar" y "tratamiento" en el contexto de administrar (una) terapia(s) a un sujeto se refieren a la reducción o mejora de la progresión, gravedad y/o duración de una enfermedad o trastorno, y/o la mejora de uno o más síntomas de los mismos resultantes de la administración de una o más terapias (incluida, entre otras, la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos).

10 Los antagonistas de FcRn, proteínas de fusión o composiciones de la invención y/o las composiciones que los comprenden se administran según un régimen de tratamiento que es adecuado para prevenir y/o tratar la enfermedad y/o trastorno que se va a prevenir o tratar. El médico generalmente podrá determinar un régimen de tratamiento adecuado, dependiendo de factores tales como el estadio de la enfermedad y/o trastorno a tratar, la gravedad de la enfermedad y/o trastorno a tratar y/o la gravedad de
15 los síntomas de los mismos, los antagonistas de FcRn específicos, proteínas de fusión o composiciones de la invención que se van a utilizar, la vía de administración específica y formulación o composición farmacéutica a utilizar, la edad, sexo, peso, dieta, condición general del paciente, y factores similares bien conocidos por el médico.

 Generalmente, el régimen de tratamiento comprenderá la administración de uno o más
20 antagonistas de FcRn, proteínas de fusión o composiciones de la invención, o de una o más composiciones que los comprenden, en una o más cantidades o dosis farmacéuticamente eficaces. El médico puede determinar la(s) cantidad(es) o dosis específicas que se van a administrar, basándose nuevamente en los factores citados anteriormente.

 Normalmente, en el método anterior, se utilizará un único antagonista de FcRn, proteínas de fusión
25 o composiciones de la invención. Sin embargo, está dentro del alcance de la invención usar dos o más antagonistas de FcRn, proteínas de fusión o composiciones de la invención en combinación.

 Los antagonistas de FcRn, proteínas de fusión o composiciones de la invención también se pueden usar en combinación con uno o más compuestos o principios farmacéuticamente activos adicionales, es decir, como un régimen de tratamiento combinado, que puede conducir o no a un efecto sinérgico.
30 Nuevamente, el médico podrá seleccionar dichos compuestos o principios adicionales, así como un régimen de tratamiento combinado adecuado, basándose en los factores mencionados anteriormente y su juicio experto.

 En los antagonistas de FcRn, las composiciones o proteínas de fusión de la invención se pueden usar en combinación con otros compuestos o principios farmacéuticamente activos que se usan o se
35 pueden usar para la prevención y/o el tratamiento de la enfermedad y/o trastorno mencionado en el presente documento, como resultado de lo cual se puede obtener o no un efecto sinérgico. Los ejemplos de dichos compuestos y principios, así como las vías, métodos y formulaciones o composiciones farmacéuticas para administrarlos quedarán claros para el médico.

Cuando se van a utilizar dos o más sustancias o principios como parte de un régimen de tratamiento combinado, se pueden administrar mediante la misma vía de administración o mediante diferentes vías de administración, esencialmente al mismo tiempo o en diferentes momentos (por ejemplo, esencialmente de forma simultánea, consecutiva o de acuerdo con un régimen alterno). Cuando las sustancias o principios se van a administrar simultáneamente a través de la misma vía de administración, se pueden administrar como diferentes formulaciones o composiciones farmacéuticas o como parte de una formulación o composición farmacéutica combinada, como quedará claro para el experto.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en este documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, en el ámbito de un criterio médico razonable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin provocar excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, en consonancia con una relación beneficio/riesgo razonable.

Métodos y usos de los antagonistas de FcRn, composiciones y/o proteínas de fusión

En otro aspecto, la presente invención proporciona antagonistas de FcRn, composiciones y/o proteínas de fusión que los comprenden, para su uso en medicina. En particular, la presente invención proporciona el uso de antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones de la presente invención en terapia, por ejemplo para el tratamiento de un trastorno mediado por anticuerpos en un sujeto. En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones y artículos de fabricación (por ejemplo, kits) para su uso en dichos métodos de tratamiento.

Por lo tanto, la presente invención proporciona el uso de antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones en la fabricación de un medicamento, en particular un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por anticuerpos en un sujeto. Por lo tanto, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento de trastornos mediados por anticuerpos en un sujeto, en donde los métodos comprenden la administración de antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones de la presente invención a un sujeto que los necesita.

Como se utilizan en el presente documento, los términos trastorno, afección o enfermedad **"relacionada con anticuerpos", "mediada por anticuerpos", y "que responde a anticuerpos"**, se refieren a un trastorno, afección o enfermedad que puede mejorarse mediante la eliminación de anticuerpos no deseados (por ejemplo, cierta IgG autorreactiva o IgG terapéutica o de diagnóstico proporcionada exógenamente que ya no es necesaria o beneficiosa para el paciente).

En determinadas realizaciones, el trastorno mediado por anticuerpos es una enfermedad autoinmunitaria.

En determinadas realizaciones, la enfermedad autoinmunitaria se selecciona del grupo que consiste en rechazo de injerto de islotes alogénicos, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome antifosfolípido, enfermedad de Addison autoinmune, enfermedad de Alzheimer, autoanticuerpos citoplasmáticos antineutrófilos (ANCA), enfermedades autoinmunes de la glándula suprarrenal, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, miocarditis autoinmune, neutropenia autoinmune, ooforitis y orquitis autoinmunes, trombocitopenia autoinmune, urticaria autoinmune, enfermedad de Behcet,

penfigoide ampoloso, miocardiopatía, síndrome de Castleman, dermatitis por esprúe celíaco, síndrome de fatiga crónica de disfunción inmune, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), síndrome de Churg-Strauss, penfigoide cicatrical, síndrome de CREST, enfermedad de aglutinina fría, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, miocardiopatía dilatada, lupus discoide, epidermólisis bullosa acuita, 5 crioglobulinemia mixta esencial, deficiencia de factor VIII, fibromialgia-fibromiositis, glomerulonefritis, enfermedad de Grave, Guillain-Barre, síndrome de Goodpasture, enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), tiroiditis de Hashimoto, hemofilia A, neuropatía membranosa idiopática, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopenia idiopática (ITP), neuropatía IgA, polineuropatías IgM, trombocitopenia inmune mediada, artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plantus, liquen escleroso, lupus 10 eritematoso, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta del tejido conectivo, penfigoide de membranas mucosas, esclerosis múltiple, diabetes mellitus tipo 1, neuropatía motora multifocal (MMN), miastenia grave, penfigoide ampoloso paraneoplásico, gestación penfigoide, pénfigo vulgar, pénfigo foliáceo, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, artritis 15 psoriásica, policondritis recidivante, fenómeno de Reynaud, síndrome de Reiter, artritis reumatoide, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjorgen, rechazo de trasplante de órganos sólidos, síndrome del hombre rígido, lupus eritematoso sistémico, arteritis de takayasu, necrólisis epidérmica tóxica (TEN), síndrome de Stevens Johnson (SJS), arteritis temporal/arteritis de células gigantes, púrpura trombótica trombocitopenia, colitis ulcerosa, uveítis, dermatitis herpetiforme, vasculitis, vasculitis asociadas a 20 anticuerpos anticitoplasmática de neutrófilos, vitíligo y granulomatosis de Wegner.

En determinadas realizaciones, la enfermedad autoinmunitaria se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de injerto contra hospedador (GVHD), lupus eritematoso sistémico (SLE), miastenia grave, esclerosis sistémica (SSc)/esclerodermia, artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, diabetes, esclerosis múltiple, pénfigo vulgar, dermatitis atópica, psoriasis, asma, alergia, 25 fibrosis pulmonar idiopática (IPF), púrpura trombocitopenia idiopática (ITP) e hidradenitis supurativa.

En determinadas realizaciones, el trastorno mediado por IgG puede ser una alergia. La alergia puede ser, por ejemplo, una alergia alimentaria, una alergia a un medicamento, una alergia medioambiental y una alergia de contacto.

En determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn, las proteínas de fusión y/o las 30 composiciones de la presente invención reducen los niveles séricos de un agente que contiene Fc en un sujeto al que se le han administrado los antagonistas de FcRn, en donde dichos antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones se administran simultánea o secuencialmente a dicho sujeto. Puede desearse la eliminación de un agente que contiene Fc en los casos en los que el agente que contiene Fc es perjudicial (por ejemplo, tóxico) para un sujeto, o en donde solo se desea que el reactivo que contiene 35 Fc esté presente en un sujeto durante un cierto período de tiempo, por ejemplo, cuando el agente que contiene Fc es inmunogénico o cuando el agente que contiene Fc es un conjugado anticuerpo-fármaco, respectivamente. En determinadas realizaciones, la eliminación de un agente que contiene Fc reduce la cantidad de exposición del sujeto al agente que contiene Fc. El nivel de cualquier agente que contiene Fc

en el suero se puede reducir empleando los antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones descritas en el presente documento. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn, las proteínas de fusión y/o las composiciones divulgadas en el presente documento se usan para reducir los niveles séricos de un agente que contiene Fc en un sujeto al que se le han administrado los antagonistas de FcRn, las proteínas de fusión y/o las composiciones. Por ejemplo, un sujeto al que se le administra un agente terapéutico puede desarrollar anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos antifármaco, que reducen la disponibilidad y/o eficacia del agente terapéutico administrado. La presencia de anticuerpos antifármaco en un sujeto puede provocar efectos secundarios no deseados. En consecuencia, los antagonistas de FcRn, las proteínas de fusión y/o las composiciones divulgadas en el presente documento eliminan los anticuerpos antifármaco que se desarrollan en un sujeto. En otro ejemplo no limitante, los antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones divulgadas en el presente documento se pueden administrar después de haber administrado una cantidad eficaz de un anticuerpo radiomarcado para reducir la exposición de un tejido no diana a un anticuerpo radiomarcado durante el diagnóstico por imágenes, que comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de los antagonistas de FcRn, proteínas de fusión y/o composiciones descritas en el presente documento.

En determinadas realizaciones, los antagonistas de FcRn, las proteínas de fusión y/o las composiciones se administran al sujeto de forma simultánea o secuencial con un agente terapéutico adicional. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente antiinflamatorio.

Ejemplos específicos de ISVD que se unen a FcRn que son adecuados para su uso como primeros polipéptidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención

En la presente descripción se han proporcionado anteriormente ejemplos de ISVD que se unen específicamente a FcRn que son adecuados para su uso como primeros polipéptidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención, véase, por ejemplo, la sección "El primer polipéptido (a) comprendido en los antagonistas de FcRn de la presente invención".

Otros ejemplos específicos de ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - d) la secuencia de aminoácidos de GFTFSSYAMY (SEQ ID NO: 11);
 - e) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de GFTFSSYAMY (SEQ ID NO: 11);
 - f) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de GFTFSSYAMY (SEQ ID NO: 11);

y

- CDR2 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - g) la secuencia de aminoácidos de AISSGGGSTD (SEQ ID NO: 12);
 - h) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de AISSGGGSTD (SEQ ID NO: 12);

- i) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de AISSGGGSTD (SEQ ID NO: 12);

y

- CDR3 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- j) la secuencia de aminoácidos de DTLYTSLESYSY (SEQ ID NO:189);
- k) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DTLYTSLESYSY (SEQ ID NO:189);
- l) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DTLYTSLESYSY (SEQ ID NO:189).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 11, 12, y/o 189.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración AbM) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 186 o 187.

SEQ ID NO: 186 (T0263018B11 (Y79S, T100bE, W100cS)) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en *cursiva*)

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO: 187 (T0263018B11 (E1D, Y79S, T100bE, W100cS)) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en *cursiva*)

DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYAD
SVKGRFTISRDN SKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYWGQGT LVT VSS

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco indicadas para T0263018B11 (Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 186) o para T0263018B11 (E1D, Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 187). En una realización, el ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263018B11 (Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 186) o la secuencia de aminoácidos completa de T0263018B11 (E1D, Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 187).

Las SEQ ID NO de las secuencias CDR mencionadas anteriormente se basan en la definición de CDR según la definición AbM (véanse las Tablas A-3 y A-5). Cabe señalar que también se pueden utilizar las SEQ ID NO para las secuencias CDR definidas según la definición de Kabat (véanse las Tablas A-4 y A-6). Por consiguiente, los ISVD proporcionados por la presente tecnología, que se unen específicamente a FcRn como se ha descrito anteriormente utilizando la definición de AbM, también pueden describirse utilizando la definición de Kabat.

Como tal, en una realización, los ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de SYAMY (SEQ ID NO: 8);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de SYAMY (SEQ ID NO: 8);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SYAMY (SEQ ID NO: 8);

y

- CDR2 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - d) la secuencia de aminoácidos de AISSGGGSTDYADSVKG (SEQ ID NO: 9);
 - e) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de AISSGGGSTDYADSVKG (SEQ ID NO: 9);
 - f) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de AISSGGGSTDYADSVKG (SEQ ID NO: 9);

y

- CDR3 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - g) la secuencia de aminoácidos de DTLYTSLESYSY (SEQ ID NO: 189);
 - h) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DTLYTSLESYSY (SEQ ID NO: 189);
 - i) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DTLYTSLESYSY (SEQ ID NO: 189).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 8, 9, y/o 189.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración Kabat) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de

secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 186 o 187.

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco indicadas para T0263018B11 (Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 186) o para T0263018B11 (E1D, Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 187). En una realización, el ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa T0263018B11 (Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 186) o la secuencia de aminoácidos completa T0263018B11 (E1D, Y79S, T100BE, W100CS) (SEQ ID NO: 187) (véanse las Tablas A-3 a A-6).

En otra realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn humano puede tener una identidad de secuencia de más de un 90 %, tal como más de un 95 % o incluso más de un 99 %, con SEQ ID NO: 186, en donde las CDR se definen como se indicó anteriormente. En una realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 186 o de SEQ ID NO: 187.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 186 o SEQ ID NO: 187, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 186 o SEQ ID NO: 187, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 186 o SEQ ID NO: 187, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad

de unión a FcRn de cyno en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 186 o SEQ ID NO: 187, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

Otros ejemplos específicos de ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de GFSFSDYYMY (SEQ ID NO:128);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GFSFSDYYMY (SEQ ID NO:128);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de GFSFSDYYMY (SEQ ID NO:128);

y

- CDR2 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de AISSGGSSTY (SEQ ID NO: 129);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de AISSGGSSTY (SEQ ID NO: 129);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de AISSGGSSTY (SEQ ID NO: 129);

y

- CDR3 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de DYLSVPDPSYEY (SEQ ID NO:130);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYLSVPDPSYEY (SEQ ID NO:130);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYLSVPDPSYEY (SEQ ID NO:130).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 128, 129, y/o 130.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración AbM) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 131.

SEQ ID NO: 131 (T0263091D07) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en *cursiva*)

EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFDYYMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGSSTYYADS
VKGRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTALYYCAADYLSVPDPSYEYWGQGLTVTVSS

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263091D07 (SEQ ID NO: 131). En una realización, el ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263091D07 (SEQ ID NO: 131).

Las SEQ ID NO de las secuencias CDR mencionadas anteriormente se basan en la definición de CDR de acuerdo con la definición de AbM (véase la Tabla A-11). Cabe señalar que las SEQ ID NO para las secuencias CDR definidas de acuerdo con la definición de Kabat también pueden utilizarse (véase la Tabla A-12). Por consiguiente, los ISVD proporcionados por la presente tecnología, que se unen específicamente a FcRn como se ha descrito anteriormente utilizando la definición de AbM, también pueden describirse utilizando la definición de Kabat.

Como tal, en una realización, los ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de DYYMY (SEQ ID NO: 136);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYYMY (SEQ ID NO: 136);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de DYYMY (SEQ ID NO: 136);

y

- CDR2 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de AISSGGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 137);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de AISSGGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 137);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de AISSGGSSTYYADSVKG (SEQ ID NO: 137);

y

- CDR3 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de DYLSVPDPSYEY (SEQ ID NO: 130);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYLSVPDPSYEY (SEQ ID NO: 130);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYLSVPDPSYEY (SEQ ID NO: 130).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 136, 137, y/o 130.

5 En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración Kabat) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de
10 secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131.

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:
15 130.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263091D07 (SEQ ID NO: 131). En una realización, es un ISVD que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263091D07 (SEQ ID NO:131) (véase la Tabla A-11, la Tabla A-12).

20 En otra realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn humano puede tener una identidad de secuencia de más de un 90 %, tal como más de un 95 % o incluso más de un 99 %, con SEQ ID NO: 131, en donde las CDR se definen como se indicó anteriormente. En una realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 131, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

25 En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con uno de los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 131, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

30 En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad
35

de unión a FcRn humano en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 131, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 131, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

Otros ejemplos específicos de ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de GFTLDYYAIG (SEQ ID NO: 141);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de GFTLDYYAIG (SEQ ID NO: 141);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de GFTLDYYAIG (SEQ ID NO: 141);

y

- CDR2 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de CISSSGDSTY (SEQ ID NO: 142);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de CISSSGDSTY (SEQ ID NO: 142);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de CISSSGDSTY (SEQ ID NO: 142);

y

- CDR3 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de DPPSYWTGTGCLYGYRY (SEQ ID NO:143);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DPPSYWTGTGCLYGYRY (SEQ ID NO:143);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DPPSYWTGTGCLYGYRY (SEQ ID NO:143).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 141, 142, y/o 143.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración AbM) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de

identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 144.

5 SEQ ID NO: 144 (T0263204B12) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en *cursiva*)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVLCISSSGDSTYYADSV
KGRFTISRDNKNTVYLQMDSLNPEDTAVYYCAVDPPSYWTGTGCLYGYRYWGQGTLVTVSS

10 En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143.

15 Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263204B12 (SEQ ID NO: 144). En una realización, el ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263204B12 (SEQ ID NO: 144).

20 Las SEQ ID NO de las secuencias CDR mencionadas anteriormente se basan en la definición de CDR de acuerdo con la definición de AbM (véase la Tabla A-13). Cabe señalar que las SEQ ID NO para las secuencias CDR definidas de acuerdo con la definición de Kabat también pueden utilizarse (véase la Tabla A-14). Por consiguiente, los ISVD proporcionados por la presente tecnología, que se unen específicamente a FcRn como se ha descrito anteriormente utilizando la definición de AbM, también pueden describirse utilizando la definición de Kabat.

Como tal, en una realización, los ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- 25 - CDR1 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- a) la secuencia de aminoácidos de YYAIG (SEQ ID NO: 145);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de YYAIG (SEQ ID NO: 145);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YYAIG (SEQ ID NO: 145);

y

- 30 - CDR2 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- a) la secuencia de aminoácidos de CISSSGDSTYYADSVKG (SEQ ID NO:146);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de CISSSGDSTYYADSVKG (SEQ ID NO:146);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de CISSSGDSTYYADSVKG (SEQ ID NO:146);

35

y

- CDR3 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de DPPSYWTGTGCLYGYRY (SEQ ID NO: 143);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DPPSYWTGTGCLYGYRY (SEQ ID NO: 143);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DPPSYWTGTGCLYGYRY (SEQ ID NO: 143).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 145, 146, y/o 143.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración Kabat) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263204B12 (SEQ ID NO: 144). En una realización, es un ISVD que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263204B12 (SEQ ID NO: 144) (véase la Tabla A-12, la Tabla A-13).

En otra realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn humano puede tener una identidad de secuencia de más de un 90 %, tal como más de un 95 % o incluso más de un 99 %, con SEQ ID NO: 144, en donde las CDR se definen como se indicó anteriormente. En una realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 144, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de

cyno en comparación con uno de los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 144, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 144, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 144, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

Otros ejemplos específicos de ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);

y

- CDR2 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);

y

- CDR3 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

- a) la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 155, 156, y/o 157.

5 En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración AbM) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de
10 secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 158 o 168.

SEQ ID NO: 158 (T0263201B05(E1D)) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en *cursiva*)

DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEVVS**YISSDGGGETSYADS**
15 VKGRFTISRDNAMLYLQMSSLKLEDTALYYCAK**GGV**RGQGTTLTVSS

SEQ ID NO: 168 (T0263201B05) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en *cursiva*)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEVVS**YISSDGGGETSYADS**
20 VKGRFTISRDNAMLYLQMSSLKLEDTALYYCAK**GGV**RGQGTTLTVSS

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156, y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o para
25 T0263201B05 (SEQ ID NO: 168). En una realización, el ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o la secuencia de aminoácidos completa de T0263201B05 (SEQ ID NO: 168).

Las SEQ ID NO de las secuencias CDR mencionadas anteriormente se basan en la definición de CDR según la definición AbM (véanse las Tablas A-7 y A-9). Cabe señalar que también se pueden utilizar
30 las SEQ ID NO para las secuencias CDR definidas según la definición de Kabat (véanse las Tablas A-8 y A-10). Por consiguiente, los ISVD proporcionados por la presente tecnología, que se unen específicamente a FcRn como se ha descrito anteriormente utilizando la definición de AbM, también pueden describirse utilizando la definición de Kabat.

Como tal, en una realización, los ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que
35 comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de DYGMG (SEQ ID NO: 159);

- b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de DYGMG (SEQ ID NO: 159);
- c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYGMG (SEQ ID NO: 159);

5 y

- CDR2 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETSYADSVKG (SEQ ID NO: 160);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de YISSDGGETSYADSVKG (SEQ ID NO: 160);
 - 10 c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETSYADSVKG (SEQ ID NO: 160);

y

- CDR3 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
 - 15 b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de GGV (SEQ ID NO: 157);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157).

20 Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 159, 160, y/o 157.

25 En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración Kabat) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o 168.

30 En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

35 Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o para T0263201B05 (SEQ ID NO: 168). En una realización, el ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o la secuencia de aminoácidos completa T0263201B05 (SEQ ID NO: 168) (véanse las Tablas A-7 a A-10).

En otra realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn humano puede tener una identidad de secuencia de más de un 90 %, tal como más de un 95 % o incluso más de un 99 %, con SEQ ID NO: 158, en donde las CDR se definen como se indicó anteriormente. En una realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o de

5 SEQ ID NO: 168.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 158

10 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con uno de los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

15 En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

20 En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

30 **Ejemplos específicos de ISVD que se unen a FcRn que son adecuados para su uso como segundos polipéptidos en los antagonistas de FcRn de la presente invención**

Algunos ejemplos específicos de ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- 35 - CDR1 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
- a) la secuencia de aminoácidos de GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);

c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos GFTFSDYGMG (SEQ ID NO: 155);

y

- CDR2 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

a) la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);

b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);

c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de YISSDGGETS (SEQ ID NO: 156);

y

- CDR3 (numeración AbM) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:

a) la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);

b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);

c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 155, 156, y/o 157.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración AbM) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 158 o 168.

SEQ ID NO: 158 (T0263201B05(E1D)) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en cursiva)

DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEVVSYISSDGGETSYADS
VKGRFTISRDNAMLYLQMSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLVTVSS

SEQ ID NO: 168 (T0263201B05) (las CDR según Abm están subrayadas; las CDR según Kabat están en cursiva)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEVVSYISSDGGETSYADS
VKGRFTISRDNAMLYLQMSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLVTVSS

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156, y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o para T0263201B05 (SEQ ID NO: 168). En una realización, la ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa de T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o la secuencia de aminoácidos completa de T0263201B05 (SEQ ID NO: 168).

Las SEQ ID NO de las secuencias CDR mencionadas anteriormente se basan en la definición de CDR según la definición AbM (véanse las Tablas A-7 y A-9). Cabe señalar que también se pueden utilizar las SEQ ID NO para las secuencias CDR definidas según la definición de Kabat (véanse las Tablas A-8 y A-10). Por consiguiente, los ISVD proporcionados por la presente tecnología, que se unen específicamente a FcRn como se ha descrito anteriormente utilizando la definición de AbM, también pueden describirse utilizando la definición de Kabat.

Como tal, en una realización, los ISVD que se unen específicamente a FcRn son ISVD que comprenden 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en donde:

- CDR1 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de DYGMG (SEQ ID NO: 159);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de DYGMG (SEQ ID NO: 159);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de DYGMG (SEQ ID NO: 159);
- y
- CDR2 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETSYADSVKG (SEQ ID NO: 160);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de YISSDGGETSYADSVKG (SEQ ID NO: 160);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de YISSDGGETSYADSVKG (SEQ ID NO: 160);
- y
- CDR3 (numeración Kabat) consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de:
 - a) la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
 - b) secuencias de aminoácidos que tienen al menos un 80 % de identidad de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157);
 - c) secuencias de aminoácidos que tienen 3, 2 o 1 diferencia de aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de GGV (SEQ ID NO: 157).

Preferiblemente, las secuencias CDR tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente el 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias CDR de las SEQ ID NO: 159, 160, y/o 157.

En una realización, los ISVD comprenden CDR (numeración Kabat) con una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 % de identidad de secuencia de aminoácidos, preferiblemente al menos un 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos, más preferiblemente al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos o un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, o incluso esencialmente un 100 % de identidad de secuencia de aminoácidos con las secuencias de aminoácidos de las CDR del ISVD con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o 168.

En una realización, el ISVD comprende una CDR1 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159, una CDR2 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y una CDR3 (numeración Kabat) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

Algunos ejemplos específicos de dichos ISVD que se unen específicamente a FcRn tienen una o más, o todas las regiones marco como se indica para T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o para T0263201B05 (SEQ ID NO: 168). En una realización, la ISVD comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos completa T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) o la secuencia de aminoácidos completa T0263201B05 (SEQ ID NO: 168) (véanse las Tablas A-7 a A-10).

En otra realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn humano puede tener una identidad de secuencia de más de un 90 %, tal como más de un 95 % o incluso más de un 99 %, con SEQ ID NO: 158, en donde las CDR se definen como se indicó anteriormente. En una realización, el ISVD que se une específicamente a FcRn comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 o de SEQ ID NO: 168.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn humano en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tiene una diferencia de 3, 2 o 1 aminoácido en al menos una CDR con respecto a una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con los VHH con una secuencia que comprende o consiste en SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad

de unión a FcRn humano en comparación con los VHH con SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

En otra realización, cuando las CDR de dicho ISVD que se une específicamente a FcRn tienen al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos, al menos un 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos, tal como un 99 % de identidad de secuencia de aminoácidos o más, con una secuencia CDR de referencia correspondiente (anterior), el ISVD tiene al menos (esencialmente) la misma afinidad de unión a FcRn de cyno en comparación con un VHH con SEQ ID NO: 158 o SEQ ID NO: 168, en donde la afinidad de unión se mide usando el mismo método, tal como, por ejemplo, SPR.

SECUENCIAS

10 SEQ ID NO: 62 – Construcción de fusión C-terminal sin mutación de protuberancias/cavidades en la región Fc

Secuencia de Fc YTE-KF (SEQ ID NO: (23) o 24), con la secuencia de bisagra de Fc YTE-KF subrayada, *secuencia del enlazador de 35 GS en cursiva (SEQ ID NO: 39)*, **secuencia de T0263018B11-W100cS (FcRn ISVD, SEQ ID NO: 15) en negrita**

15 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
 EALKFHYTQKSLSLSPG(K)GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGV
 VQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWWSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTL
 20 YLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 124 – Construcción de fusión C-terminal (TP069) (cadena 1-protuberancias)

Secuencia de Fc YTE-KF (protuberancias) (SEQ ID NO: 119, con la secuencia de bisagra de Fc YTE-KF subrayada, *secuencia del enlazador de 35 GS en cursiva (SEQ ID NO: 39)*, **secuencia de T0263018B11-W100cS (FcRn ISVD, SEQ ID NO: 15) en negrita**

25 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTK
 NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
 HEALKFHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGV
 QPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWWSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
 30 LQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO: 125 o 120 – Construcción de fusión C-terminal (TP069) (Cadena 2-cavidades)

Secuencia de Fc YTE-KF (cavidad) (SEQ ID NO: 120, con la secuencia de bisagra Fc YTE-KF subrayada

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
 PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTK
 35 NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
 HEALKFHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO: 63 – Construcción de fusión N-terminal sin mutación de protuberancias/cavidades en la región Fc

Secuencia de T0263018B11 (E1D,W100cS) en negrita (FcRn ISVD, SEQ ID NO: 185), secuencia de Fc YTE-KF (SEQ ID NO: (23) o 24) con secuencia de bisagra de Fc YTE-KF subrayada

**DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKG
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGT LVTVSSDKTHTCPPCPAPELL**
GGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSL
PG(K)

SEQ ID NO: 126 – Construcción de fusión *N*-terminal (TP067) (Cadena 1-protuberancias)

Secuencia de T0263018B11(E1D, W100cS) en negrita (FcRn ISVD, SEQ ID NO: 185), secuencia de Fc YTE-KF (protuberancia) (SEQ ID NO: 119) con secuencia de bisagra de Fc YTE-KF subrayada

**DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKG
RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGT LVTVSSDKTHTCPPCPAPELL**
GGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSL
SPG

SEQ ID NO: 127 – Construcción de fusión *N*-terminal (TP067) (Cadena 2-cavidades)

Secuencia de Fc YTE-KF (cavidad) (SEQ ID NO: 120) con secuencia de la bisagra Fc YTE-KF subrayada

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELTK
NQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
HEALKFHYTQKSLSLSPG

Tabla A-1

Nombre	ID	Secuencia de aminoácidos
FcRn humano	1	AESHLSLLYHLTAVSSPAPGTPAFWVSGWLGPQQYLSYNSL RGEAEP CGAWWENQVSWYWEKETDRLRIKEKLFLEAFKA LGGKGPYTLQGLLGCELGPDNTSVPTAKFALNGEEFMNFDL KQGTWGGDWPEALAIQRWQQQDKAANKELTFLLFSCPHR LREHLERGRGNLEWKEPPSMRLKARPSSPGFSVLTCSAFS FYPPQLRFLRNLAAAGTGQDGFPSDGSFHASSTLVK SGDEHHYCCIVQHAGLAQPLRVELESPAKSS
CDR1 (secuencia variable - Kabat)	2	$X_1 X_2 X_3$ M Y, en donde X_1 es A, D, E, G, K, N, Q, S, T o V, X_2 es A, F, L, M, N, Q, S, T, V o Y, y X_3 es A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V
CDR2 (secuencia variable - Kabat)	3	A I $X_3 X_4 G G G X_8 X_9 X_{10}$ Y A D S V K G, en donde X_3 es A, D, E, G, H, P, Q, R, S, T o V,

		X₄ es A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, X₈ es A, D, G, H, K, L, M, Q, S, T o V, X₉ es A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, y X₁₀ es A, D, E, H, S, T, V o Y,
5	CDR3 (secuencia variable - Kabat)	4 D X₂ X₃ X₄ T X₆ X₇ T X₉ Y X₁₁ X₁₂, en donde X₂ es A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, T, V, W o Y, X₃ es L o N, X₄ es F, L, W o Y, X₆ es A, D, E, K, L, M, Q, S o W, X₇ es L, M o V, X₉ es A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y, X₁₁ es A, E, L, M, Q, S, T, V o W, y X₁₂ es T o Y
15	CDR1 (secuencia variable - AbM)	5 X_a X_b X_c F X_e X₁ X₂ X₃ M Y, en donde X_a es A, D, E, F, G, H, K, L, M, N, Q, S, T, W o Y, X_b es F, I, L, M, V o Y, X_c es A, E, G, I, L, M, N, P, S, T, V, W o Y, X_e es D, E, G, K, M, N, P, Q, S o T, X₁ es A, D, E, G, K, N, Q, S, T o V, X₂ es A, F, L, M, N, Q, S, T, V o Y, y X₃ es A, D, E, G, H, M, N, Q, S, T o V
25	CDR2 (secuencia variable - AbM)	6 A I X₃ X₄ G G G X₈ X₉ X₁₀, en donde X₃ es A, D, E, G, H, P, Q, R, S, T o V, X₄ es A, D, E, G, K, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, X₈ es A, D, G, H, K, L, M, Q, S, T o V, X₉ es A, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W o Y, y X₁₀ es A, D, E, H, S, T, V o Y
30	CDR3 (secuencia variable - AbM)	7 D X₂ X₃ X₄ T X₆ X₇ T X₉ Y X₁₁ X₁₂, en donde X₂ es A, D, E, F, G, I, L, M, Q, S, T, V, W o Y, X₃ es L o N, X₄ es F, L, W o Y, X₆ es A, D, E, K, L, M, Q, S o W, X₇ es L, M o V, X₉ es A, D, E, F, G, H, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y, X₁₁ es A, E, L, M, Q, S, T, V o W, y X₁₂ es T o Y
35	T0263018B11-precursor/W100cS/	8 SYAMY

	(Y79S,T100bE,W100cS) (CDR1 – Kabat)		
5	T0263018B11- precursor/W100cS/(Y79S,T1 00bE,W100cS) (CDR2 – Kabat)	9	AISSGGGSTDYADSVKG
	T0263018B11-W100cS (CDR3 – Kabat)	10	DTLYTSLTSYSY
10	T0263018B11- precursor/W100cS/(Y79S,T1 00bE,W100cS) (CDR1 – AbM)	11	GFTFSSYAMY
15	T0263018B11- precursor/W100cS/(Y79S,T1 00bE,W100cS) (CDR2 – AbM)	12	AISSGGGGSTD
	T0263018B11-W100cS (CDR3 – AbM)	13	DTLYTSLTSYSY
20	T0263018B11-precursor	14	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQ APGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTWYSYWGQGTLTVS S
25	T0263018B11-W100cS	15	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQ APGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGTLTVSS
	Unión de ISVD a CDR1 de albúmina sérica (CDR1 (kabat) de ALB23002)	16	SFGMS
30	Unión de ISVD a CDR2 de albúmina sérica (CDR2 (kabat) de ALB23002)	17	SISGSGSDTLYADSVKG
	Unión de ISVD a CDR3 de albúmina sérica (CDR3 (kabat) de ALB23002)	18	GGSLSR
35	Unión de ISVD a CDR1 de albúmina sérica (CDR1 (AbM) de ALB23002)	19	GFTFRSFGMS

5	Unión de ISVD a CDR2 de albúmina sérica (CDR2 (AbM) de ALB23002)	20	SISGSGSDL
	Unión de ISVD a CDR3 de albúmina sérica (CDR3 (AbM) de ALB23002)	21	GGSLSR
10	T0263018B11-precursor (CDR3 – Kabat)	67	DTLYTSLTWYSY
	T0263018B11-precursor (CDR3 – AbM)	68	DTLYTSLTWYSY
15	T0263018B11(E1D,W100cS)	185	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQ APGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGTLVTVSS
	T0263018B11-(Y79S,T100bE,W100cS)	186	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQ APGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLS LQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYWGQGTLVTVSS
20	T0263018B11-(E1D,Y79S,T100bE,W100cS)	187	DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQ APGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDN SKNTLS LQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYWGQGTLVTVSS
	T0263201B05(E1D)	158	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQ APGKGLEVVS YISSDGGETSYADSVKGRFTISRDN AKNMLY LQMSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLVTVSS
25	T0263201B05	168	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQ APGKGLEVVS YISSDGGETSYADSVKGRFTISRDN AKNMLY LQMSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLVTVSS
	RSV001A04(L11V,V89L,Q108L)	200	EVQLVESGGGVVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQA PGKEREFVAAINWRGDITIGPPNVEGRFTISRDN AKNTGYLQ MNSLAPDDTALYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLV TVSS
30	T0263091D07	131	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVSAISSGGSSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRPEDTALYYCAADYLSVPDPSY EYWGQGTLVTVS S
35	T0263204B12	144	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQA PGKEREGVLCISSGDSTYYADSVKGRFTISRDN AKNTVYL QMDSLNPEDTAVYYCAVDPPSYWTGTGCLYGYRYWGQGT LTVSS

5	scFv de anticuerpo FnAb12 contra FcRn	201	DIQLTQSPSSLSASVGDRVLTLCQATQDIDNNLNWYQQKPG KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFITISDLQPEDV ATYYCQQYYNLPLTFGGGKVDIKRSRGGGSGGGGSGG GGSLEMAEVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYDI NWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMT RNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGVDLGDWGQGTL VTVSS
---	--	-----	--

Tabla A-2: Regiones Fc

10	Nombre	ID	Secuencia de aminoácidos
15	Secuencias de aminoácidos de regiones Fc (WO 2015/100299)	22	CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYT QKSLSLSPG
20	Secuencias de aminoácidos de region Fc (WO 2015/100299) (YTEKF) sin KIH como TP061	23	<u>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVV</u> DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL KFHYTQKSLSLSPGK
25	Secuencias de aminoácidos de regiones Fc (WO 2015/100299)	24	<u>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVV</u> DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL KFHYTQKSLSLSPG
30	Secuencias de aminoácidos de regiones Fc (WO 2021/016571)	25	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
35	Secuencias de aminoácidos de regiones Fc (WO 2021/016571)	26	APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD

			SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSLGK
5	Secuencias de aminoácidos de regiones Fc (WO 2021/016571)	27	APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
10	Secuencias de aminoácidos de regiones Fc (WO 2021/016571)	61	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMMLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNHRTQKSL SLSPGK
15	Mutaciones YTE-KF de la región Fc (protuberancia)	119	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL KFHYTQKSLSLSPG
20	Mutaciones YTE-KF de la región Fc (cavidad)	120	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV CTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL KFHYTQKSLSLSPG
25	Mutaciones YDQY (protuberancia)	121	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLQVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHYHYTQKSLSLSPG
30			

Región Fc Mutaciones YDQY (cavidad)	122	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLQVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHYHYTQKSLSLSPG
Región Fc Mutaciones YDQY (sin KIH)	123	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLQVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHYHYTQKSLSLSPG

Tabla A-3: Secuencias de las CDR según la numeración AbM y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
186	T0263018 B11(Y79S, T100bE,W 100cS)	190	EVQLVESGGGV VQPGGSLRLSC AAS	11	GFTFS SYAM Y	203	WVRQAP GKGLEW VS	12	AISSG GGST D	204	YADSVKGRFTISRDN TSLQMNSLRPDTALYY CAA	189	DTLYTSLE SYSY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-4: Secuencias de las CDR según la numeración Kabat y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
186	T0263018 B11(Y79S, T100bE,W 100cS)	202	EVQLVESGGGV VQPGGSLRLSC AASGFTFS	8	SYAM Y	203	WVRQAP GKGLEW VS	9	AISSG GGST DYADS VKG	205	RFTISRDNKNTLSLQMN SLRPDTALYYCAA	189	DTLYTSLE SYSY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-5: Secuencias de las CDR según la numeración AbM y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
187	T026301 8B11- (E1D,Y7 9S,T100 bE,W100 cS)	206	DVQLVESGGGV VQPGGSLRLSC AAS	11	GFTFS SYAM Y	203	WVRQAP GKGLEW VS	12	AISSG GGST D	204	YADSVKGRFTISRDN TSLQMNSLRPDTALYY CAA	189	DTLYTSLE SYSY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-6: Secuencias de las CDR según la numeración Kabat y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
187	T026301 8B11- (E1D,Y7 9S,T100 bE,W100 cS)	207	DVQLVESGGGV VQPGGSLRLSC AASGFTFS	8	SYAM Y	203	WVRQAP GKGLEW VS	9	AISSG GGST DYADS VKG	205	RFTISRDNKNTLSLQMN SLRPDTALYYCAA	189	DTLYTSLE SYSY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-7: Secuencias de las CDR según la numeración AbM y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
158	T0263201 B05(E1D)	161	DVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AAS	155	GFTFS DYGM G	162	WVRQAP GKGLEW/ S	156	YISSD GGET S	163	YADSVKGRFTISRDN AKNMLYLQ MMLYLMSSSLKLEDTALYY CAK	157	GGV	164	RGQGT LVTVSS

Tabla A-8: Secuencias de las CDR según la numeración Kabat y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
158	T0263201 B05(E1D)	165	DVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFS	159	DYGM G	162	WVRQAP GKGLEW/ S	160	YISSD GGET SYADS VKG	167	RFTISRDNAKNMLYLQ MSSLKLEDTALYYCAK	157	GGV	164	RGQGT LVTVSS

Tabla A-9: Secuencias de las CDR según la numeración AbM y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
168	T026320 1B05	169	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AAS	155	GFTFS DYGM G	162	WVRQAP GKGLEW/ S	156	YISSD GGET S	163	YADSVKGRFTISRDN AKNMLYLQ MMLYLMSSSLKLEDTALYY CAK	157	GGV	164	RGQGT LVTVSS

Tabla A-10: Secuencias de las CDR según la numeración Kabat y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
168	T026320 1B05	166	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTFS	159	DYGM G	162	WVRQAP GKGLEW/ S	160	YISSD GGET SYADS VKG	167	RFTISRDNAKNMLYLQ MSSLKLEDTALYYCAK	157	GGV	164	RGQGT LVTVSS

Tabla A-11: Secuencias de las CDR según la numeración AbM y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
131	T026309 1D07	132	EVQLVESGGGV VQPGGSLRLSC AAS	128	GFSFS DYIM Y	133	WVRQAP GKGLEW VS	129	AISSG GSSTY	134	YADSVKGRFTISRDN TVYLMNSLRPEDTALY YCAA	130	DYLSVPDP SYEY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-12: Secuencias de las CDR según la numeración Kabat y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
131	T026309 1D07	138	EVQLVESGGGV VQPGGSLRLSC AASGFSFS	136	DYYM Y	133	WVRQAP GKGLEW VS	137	AISSG GSSTY YADSV KG	140	RFTISRDNKNTVYLQMN SLRPEDTALYCAA	130	DYLSVPDP SYEY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-13: Secuencias de las CDR según la numeración AbM y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
144	T026320 4B12	147	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AAS	141	GFTLD YYAIG	148	WFRQAP GKEREG VL	142	CISSS GDSTY	150	YADSVKGRFTISRDN TVYLMQMDSLNPEDTAVY YCAV	143	DPPSYWT GTGCLYGY RY	135	WGQGT LVTVSS

Tabla A-14: Secuencias de las CDR según la numeración Kabat y marcos ("ID" se refiere a la SEQ ID NO dada)

ID	V _{HH}	ID	FR1	ID	CDR1	ID	FR2	ID	CDR2	ID	FR3	ID	CDR3	ID	FR4
144	T026320 4B12	151	EVQLVESGGGL VQPGGSLRLSC AASGFTLD	145	YYAIG	148	WFRQAP GKEREG VL	146	CISSS GDSTY YADSV KG	153	RFTISRDNKNTVYLQMD SLNPEDTAVYYCAV	143	DPPSYWT GTGCLYGY RY	135	WGQGT LVTVSS

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Generación y expresión de antagonistas de FcRn que comprenden un dominio Fc con o sin la adición de un ISVD de unión a FcRn

Se generaron construcciones de polipéptidos de fusión asimétricas de un VHH de Nanobody® (ISVD) de unión a FcRn unido a un dominio Fc de una IgG usando la tecnología de protuberancia en cavidad como se conoce comúnmente en la técnica (y como se describe, por ejemplo, en la publicación de patente WO 1996/27011 de Genentech así como en publicaciones científicas de Ridgway, JB *et al.*, "'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization", Protein engineering 9,7 (1996): 617-21 y Merchant *et al.*, "An efficient route to human bispecific IgG", Nature Biotechnology 16, (1998): 677-681). La construcción de Fc simétrica de control sin ISVD (VHH de Nanobody®) se generó sin la tecnología de protuberancia en cavidad. Véase, por ejemplo, la Figura 1 y la Tabla C-0.

Tabla C-0. Descripción de antagonistas de FcRn y otras construcciones

Nombre	Descripción	Dibujo esquemático (véase la Figura 1)
TP061	FC de IGG1 YTE-KF (2 X SEQ ID NO: 23)	
TP067	Cadena1: T0263018B11(E1D,W100cS) (SEQ ID NO: 185)-Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 119) Cadena2; Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 120)	
TP069	Cadena1: Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 119)-35GS-T0263018B11(W100cS) (SEQ ID NO: 15) Cadena2; Fc de IgG1 humana YTE-KF (SEQ ID NO: 120)	

Se clonaron fragmentos de ADN de un VHH de Nanobody® de unión a FcRn y/o un dominio Fc de una IgG, obtenidos mediante PCR con combinaciones específicas de cebadores directos e inversos, cada uno de los cuales portaba un sitio de restricción Bpil específico, en el vector de expresión apropiado mediante clonación Golden Gate (Engler C, Marillonnet S., "Golden Gate cloning", Methods Mol Biol. 2014;1116:119-31). Después de la confirmación de la secuencia de Sanger, el ADN plasmídico se introdujo mediante transfección en células CHOEBNALT85 (tecnología QMCF) para la producción de proteínas. Las construcciones de polipéptido de fusión VHH de Nanobody®-Fc o la cadena Fc únicamente se purificaron a partir de los sobrenadantes celulares usando una etapa de captura con proteína A seguida de una etapa de purificación por cromatografía de intercambio iónico y/o exclusión por tamaño.

EJEMPLO 2**Estudios de unión a FcRn de construcciones de polipéptidos de fusión VHH-Fc de Nanobody® de unión a FcRn**

Se generó un conjunto de construcciones de polipéptidos de fusión VHH-Fc de Nanobody® (antagonistas de FcRn) que consistían en un dominio Fc con o sin un VHH de Nanobody® que se une específicamente a FcRn y que no compite con IgG por la unión a FcRn. El dominio Fc en todas las construcciones fue IgG1 Fc YTE-KF (= M252Y, S254T, T256E, H433K, N434F) tal como se describe en el DOCUMENTO WO 2015/100299 (que comprende la SEQ ID NO: 23 o 24, con la adición de mutaciones de protuberancia en cavidad en las construcciones polipeptídicas de fusión VHH-Fc de Nanobody® para obtener moléculas asimétricas, por ejemplo, la SEQ ID NO: 119 y 120, mientras que la VHH de Nanobody® de unión a FcRn usada fue 18B11(W100cS) (SEQ ID NO:15) o 18B11 (E1D, W100cS) (SEQ ID NO: 185). La secuencia VHH de Nanobody® en estas construcciones polipeptídicas de fusión se fusionó directamente a la bisagra de IgG1 en el extremo N del dominio Fc, véase la secuencia anterior) o mediante un enlazador peptídico de 35GS, SEQ ID NO: 39, presente en el extremo C del dominio Fc, (tal como se describe en detalle en el presente documento) (TP067 y TP069, respectivamente, véase la Figura 1 y SEQ ID NO: 124+125 y 126+127). Se generó un dominio Fc de control que no contiene un VHH de Nanobody® (TP061, véase la Figura 1).

Las construcciones proteicas de VHH de Nanobody®-Fc (antagonistas de FcRn) se caracterizaron mediante determinación de afinidad por FcRn humano y FcRn cyno a pH 6.0 y pH 7.4 en el instrumento Biacore 8K+. Para las mediciones de afinidad, se capturaron ~200-400 de FcRn humano o de cyno biotinilado en un chip sensor SA Serie S. Las proteínas de fusión VHH-Fc de Nanobody® se inyectaron en 9 concentraciones diferentes (entre 0.5 y 1500nM) y se dejaron asociar durante 120 s a 30 µl/min y disociar durante 600 s.

Los datos no se pudieron ajustar con el modelo de disociación de Langmuir 1:1 y en su lugar se utilizó un modelo de ajuste de analito bivalente debido al comportamiento bifásico de tasa de asociación observado durante el análisis. Las afinidades de FcRn obtenidas para TP061 estaban en línea con los datos publicados (véase, por ejemplo, Vaccaro, C., Zhou, J., Ober, R. *et al.*, "Engineering the Fc region of immunoglobulin G to modulate in vivo antibody levels", Nat. Biotechnol. 23, 1283–1288 (2005)). Las construcciones proteicas VHH-Fc de Nanobody® que contienen el VHH de Nanobody® 18B11 (W100cS) de unión a FcRn mostraron una unión mejorada a FcRn debido a un efecto de avidéz (es decir, unión a FcRn a través de Fc y el componente esencial de Nanobody®) (TP067 y TP069). Se observó una unión similar para la fusión N o C-terminal de 18B11(W100cS) con Fc Abdeg (dominio Fc) (TP067 y TP069).

Tabla 6. Afinidades de FcRn a pH 6.0 o pH 7.4

Construcción	FcRn humano		FcRn cynomolgus	
	pH 6.0	pH 7.4	pH 6.0	pH 7.4
T-0263-00_TP061	1.72E-08 M	Sin unión significativa	2.75E-08 M	Sin unión significativa
T-0263-00_TP067	6.92E-10 M	1.03E-08 M	5.41E-10 M	1.12E-08 M

T-0263-00_TP069	8.73E-10 M	1.40E-08 M	6.83E-10 M	1.25E-08 M
-----------------	------------	------------	------------	------------

EJEMPLO 3**Desarrollo y optimización del ensayo PK sérico (ensayo para la detección de antagonista de FcRn y Privigen® en plasma de ratón)**

5 Se determinaron la concentración de cada antagonista de FcRn y una concentración sustituta de Privigen® (IgG) en cada punto temporal mediante un ensayo LC-MS2 ascendente. Las muestras de plasma se enriquecieron con dos patrones internos: SiluMAB MSQC7 para tener en cuenta las pérdidas e interferencias en la cuantificación de Privigen® y una construcción de Nanobody® de fusión de Fc producida internamente para tener en cuenta las pérdidas e interferencias en la cuantificación del

10 antagonista de FcRn. Posteriormente, las muestras se diluyeron, redujeron, carbamidometilaron y se precipitaron las proteínas. Los sedimentos obtenidos se digirieron con tripsina y los péptidos sustitutos resultantes se analizaron mediante LC-MS/MS. Los patrones de calibración y las muestras de control de calidad se prepararon añadiendo antagonista de FcRn, Privigen® y los dos patrones internos en plasma en blanco, de modo que cada alícuota del patrón de calibración contuviera las cuatro sustancias.

15 El análisis de los péptidos se realizó en un UHPLC Agilent 1290 Infinity II asociado a un espectrómetro de masas Sciex 6500+. Para la separación, se lavó una columna Aquity UPLC Peptide CSH C18 130Å 1.7 µm 50 x 2.1 mm (Waters) a 50 °C con un gradiente gradual de agua/DMSO/ácido fórmico (100/1/0.5; v/v/v) y acetonitrilo/DMSO/ácido fórmico (100/1/0.5; v/v/v) con un flujo de 0.50 ml min⁻¹. El espectrómetro de masas se hizo funcionar en modo positivo según las instrucciones del fabricante con la

20 fuente de iones a 5500 V y 450 °C. Los tiempos de permanencia fueron de 30 s. Se utilizó una transición de reacción múltiple correspondiente a un péptido único del dominio constante de la cadena ligera de anticuerpos humanos como sustituto de la concentración de Privigen®. Para los antagonistas de FcRn, se utilizó una transición de reacción múltiple de un péptido sustituto único en el dominio Fc como sustituto para la cuantificación. Tanto el antagonista de FcRn como Privigen se cuantificaron simultáneamente, en

25 un único ciclo analítico. Las áreas de los picos cromatográficos se determinaron con el algoritmo AutoPeak (Sciex OS). Las concentraciones se determinaron utilizando la relación entre el área del analito y el área del patrón interno correspondiente en la misma muestra y comparando los resultados con la curva de calibración obtenida con los patrones de calibración.

EJEMPLO 4**Estudio *in vivo*: Estudio farmacodinámico de la eliminación de hIgG en ratones transgénicos**

30 Se realizó un estudio con ratones Tg32 (B6.Cg-Fcgrtm1Dcr Tg(FCGRT) 32Dcr/DcrJ) para determinar la eliminación de IgG mediante las construcciones antagonistas de FcRn bajo investigación. Para alcanzar niveles endógenos relevantes de hIgG en estos ratones, a ratones Tg32 se les inyectó por vía intravenosa en la cola 500 mg/kg de Privigen®. 48 h después de la administración de Privigen®, a 9 ratones/grupo se

35 les inyectó por vía intravenosa en la cola PBS (grupo de placebo), 20 mg/kg de la molécula de referencia TP061 o una concentración equimolar de los compuestos de prueba TP067 o TP069, que contienen una fusión N-terminal o C-terminal del Fc modificado por ingeniería genética con un Nb FcRn dependiente del pH, como se ha descrito en detalle anteriormente.

Se recuperó sangre en diferentes momentos (3 ratones por momento, esquema de muestreo escalonado) y se preparó suero (plasma). Las muestras de suero (plasma) se analizaron mediante LC-MS/MS cuantitativa para determinar la presencia de Privigen® o la presencia de TP061, TP067 y TP069 como se describe en el Ejemplo 3. Los parámetros farmacocinéticos para los antagonistas de FcRn y Privigen® se obtuvieron a partir de análisis no compartimentales en Phoenix WinNonlin® (versión 8.2.2.227. Certara) utilizando el módulo de datos de plasma. Cuando correspondía, se excluyeron del análisis los tiempos de muestreo con una fuerte disminución de la concentración del compuesto debido al presunto impacto de la ADA.

Los perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente al tiempo se muestran en la Figura 2 A y la eliminación de IgG representada como porcentaje de la concentración de hIgG se muestra en la Figura 2 B.

Para todos los grupos de tratamiento, se determinaron las AUC de Privigen® y se calculó el % de reducción en la exposición a Privigen®. Los resultados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Eliminación de Privigen®

Tratamiento	Dosis del antagonista de FcRn (mg/kg)	AUC _{last} PRIVIGEN (h*µg/ml)	% de reducción en exposición a PRIVIGEN
PRIVIGEN	-	528000	-
PRIVIGEN+TP061	20	189000	64 %
PRIVIGEN+TP067	25	103000	80 %
PRIVIGEN+TP069	25	117000	78 %

Los perfiles de concentración media (SD) de TP061, TP067 y TP069 frente al tiempo se muestran en la Figura 3.

Los parámetros PK calculados mediante análisis NCA se enumeran en la Tabla 8.

Tabla 8. Parámetros farmacocinéticos de los antagonistas de FcRn, obtenidos mediante análisis no compartimental (NCA)

Analito	AUC _{inf}	t _{1/2}	CI
	(ug*h/ml)	(h)	(ml/h/kg)
TP061	2380	22.9	8.39
TP067	4900	18.5	5.10
TP069	8600	31.1	2.91

Podemos concluir a partir de los resultados que la administración de TP067 y TP069 produce un aumento de la eliminación de IgG, en comparación con TP061, mientras que se reduce la eliminación de TP067 y TP069. Además, la vida media de los antagonistas de FcRn de la presente invención se puede mantener esencialmente (véase, por ejemplo, TP067) o incluso mejorar (TP069) en comparación con construcciones que comprenden únicamente un dominio Fc variante (TP061). Véanse las Figuras 2 y 3 y la Tabla 8.

EJEMPLO 5**Generación y expresión de antagonistas de FcRn que comprenden un dominio competidor de IgG con o sin la adición de un dominio de unión a FcRn que no compite con IgG****1) El dominio competidor de IgG es un dominio Fc**

5 Se generaron construcciones de polipéptidos de fusión asimétricas de un VHH (ISVD) de Nanobody® de unión a FcRn unido a un dominio Fc de una IgG usando la tecnología de protuberancia en cavidad como se conoce comúnmente en la técnica (y como se describe, por ejemplo, en la publicación de patente WO 1996/27011 de Genentech así como en publicaciones científicas de Ridgway, JB *et al.*, "Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization", Protein engineering 9,7 (1996): 617-21 y Merchant *et al.*, "An efficient route to human bispecific IgG", Nature Biotechnology 16, (1998): 677-681). El dominio Fc en las construcciones fue IgG1 Fc YDQY (= M252Y,T256D,T307Q,N434Y) (que comprende SEQ ID NO: 121 o 122, que contiene las mutaciones de protuberancia en cavidad en las construcciones polipeptídicas de fusión VHH-Fc de Nanobody® para obtener moléculas asimétricas; por ejemplo, TPP-122905, TPP-122907, TPP-122908, TPP-122909, TPP-122910, TPP-122912 véase la Tabla C-1 a continuación).

Las construcciones de Fc simétricas (por ejemplo, TPP-122903 y TPP-122904) de un VHH de Nanobody® de unión a FcRn (ISVD) unida a un dominio Fc de una IgG se generaron sin la tecnología de protuberancia en cavidad (construcción de Fc homodimérica, que comprende dos veces la SEQ ID NO: 123). El dominio Fc en estas construcciones simétricas era Fc de IgG1 YDQY (= M252Y,T256D,T307Q,N434Y) (que comprende la SEQ ID NO: 123). Las VHH de Nanobody® unidas a cada una de las cadenas polipeptídicas o fragmentos del dominio Fc fueron T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186), para TPP-122903 y T0263091D07 (SEQ ID NO: 131) para TPP-122904.

Las construcciones Fc de control simétricas (por ejemplo, TPP-122902) sin VHH de Nanobody® se generaron sin la tecnología de protuberancia en cavidad (construcción de Fc homodimérica, que comprende dos veces la SEQ ID NO: 123). El dominio Fc en estas construcciones simétricas era Fc de IgG1 YDQY (= M252Y,T256D,T307Q,N434Y) (que comprende la SEQ ID NO: 123).

TPP-122902 comprende dos polipéptidos que comprenden o consisten en la Fc de IgG1 YDQY humana (SEQ ID NO: 123). SEQ ID NO: 123 es la siguiente:

30 DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRDPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLQVHLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF
SCSVMHEALHYHTQKSLSLSPG

El dominio de unión a FcRn que no compite con IgG era un VHH (ISVD) de Nanobody® en las construcciones anteriores. El ISVD de unión a FcRn utilizado fue una variante de T0263018B11 (SEQ ID NO. 15, 185, 186 o 187), T0263091D07 (SEQ ID NO: 131) o T0263204B12 (SEQ ID NO: 144) como se describe en el presente documento. Las secuencias de VHH (ISVD) de Nanobody® en estas proteínas de fusión se fusionaron mediante un enlazador (como se describe en detalle en el presente documento) al

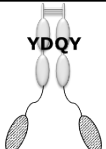
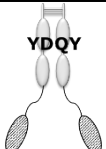
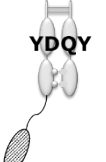
extremo *N* y/o *C* de la cadena Fc, es decir, a través de una bisagra de IgG1 y/o un enlazador GS, respectivamente (véase la Figura 4 y la Tabla C-1).

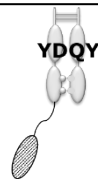
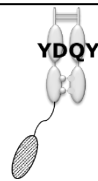
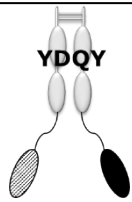
En TPP-122912 el dominio de unión a FcRn que no compite con IgG era un scFv de unión a FcRn, SEQ ID NO: 201:

5 DIQLTQSPSSLSASVGDRVLTLCQATQDIDNNLNWYQQKPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGS
GSGTDFTFTISDLQPEDVATYYCQQYYNLPLTFGGGTKVDIKRSRGGGSGGGGSGGGGSLEMAEVQL
VQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGYAQKFQGRVTM
TRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVDLGDGWGQGLTVTVSS

10 Las construcciones de polipéptido de fusión de VHH (ISVD)-Fc de Nanobody®, las construcciones de polipéptido de fusión scFv-Fc y la cadena Fc solo de polipéptidos se expresaron en células CHO y se purificaron a partir de los sobrenadantes celulares usando una etapa de captura con proteína A seguida de una etapa de purificación por cromatografía de exclusión por tamaño.

Tabla C-1. Descripción de los antagonistas de FcRn y otras construcciones

Nombre	Descripción	Dibujo esquemático (véase la Figura 4)
TPP-122902	2 X Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)	
TPP-122903	2 X Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186)-A	
TPP-122904	2 X Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 123)-35GS-T0263091D07 (SEQ ID NO: 131)-A	
TPP-122905	Cadena 1: T0263018B11(E1D,Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 187)-Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121) Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)	
TPP-122907	Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186)-A	

	Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)	
5	TPP-122908 Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-T0263091D07(SEQ ID NO: 131)-A Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)	
10	TPP-122909 Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-T0263204B12(SEQ ID NO: 144)-A Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)	
15	TPP-122910 Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186)-A Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)-35GS-ALB23002 (SEQ ID NO: 58)-A	
20	TPP-122912 Cadena 1: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 121)-35GS-scFv de anticuerpo FnAb12 contra FcRn (SEQ ID NO: 201) Cadena 2: Fc de IgG1 humana YDQY (SEQ ID NO: 122)	

2) El dominio competidor de IgG es un ISVD (p. ej., VHH de Nanobody®)

Los formatos de antagonista de FcRn sin Fc consisten en (1) un VHH (ISVD) de Nanobody® de unión a FcRn que compite con IgG, (2) un VHH (ISVD) de Nanobody® de unión a FcRn y que no compite con IgG o un ISVD de control que no se une a FcRn ni a ninguna otra diana prevista y (3) un VHH (ISVD) de Nanobody® que se une a la albúmina sérica para prolongar la vida media. El ISVD de unión a FcRn que compite con IgG fue T0263201B05(E1D) (SEQ ID NO: 158) como se describe en el presente documento.

SEQ ID NO: 158:

DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGMGWVRQAPGKGLEVVSYISSDGGGETSYADS
VKGRFTISRDNAMLYLQMSSLKLEDTALYYCAKGGVVRGQGTLTVSS

El VHH (ISDV) de Nanobody® de unión a FcRn que no compite con IgG fue T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO: 186) y el ISVD de control fue RSV001A04(L11V,V89L,Q108L) (SEQ ID NO: 200). Véanse las construcciones TPP-122946 (con ISVD de control) y TPP-122947 (con T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS)), Figura 4 y Tabla C-2.

SEQ ID NO.: 200:

EVQLVESGGGVVQAGGSLISCAASGGSLSNYVLGWFRQAPGKEREFVAAINWRGDITIGPPNV
EGRFTISRDNKNTGYLQMNSLAPDDTALYYCGAGTPLNPGAYIYDWSYDYWGRGTLVTVSS

El ISVD de unión a albúmina fue ALB23002 (SEQ ID NO: 58). Los 3 dominios se unieron mediante enlazadores 35GS (SEQ ID NO: 39).

La construcción de polipéptido del VHH (ISVD) de Nanobody® sin Fc se expresó en células CHO y se purificó a partir de los sobrenadantes celulares usando una etapa de captura con proteína A seguida de una etapa de purificación por cromatografía de exclusión por tamaño.

Tabla C-2. Descripción de los antagonistas de FcRn y otras construcciones

Nombre	Descripción	Dibujo esquemático (véase la Figura 4)
TPP-122946	T0263201B05(E1D)(SEQ ID NO: 158)-35GS - RSV001A04(L11V,V89L,Q108L) (SEQ ID NO: 200)-35GS-ALB23002 (SEQ ID NO. 58)-A	
TPP-122947	T0263201B05(E1D)(SEQ ID NO: 158)-35GS - T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS) (SEQ ID NO. 186)-35GS-ALB23002 (SEQ ID NO. 58)-A	

3) Antagonista de FcRn de control

Como control, se generó un anticuerpo monoclonal antagonista de FcRn (TPP-122914 en la Figura 4, anticuerpo monoclonal de referencia dirigido contra FcRn para el tratamiento de enfermedades relacionadas con IgG), producido en células CHO y purificado a partir de los sobrenadantes celulares usando una etapa de captura con proteína A seguida de una etapa de purificación por cromatografía de exclusión por tamaño.

EJEMPLO 6

Desarrollo y optimización de un ensayo para la detección de Privigen® en plasma de ratón.

La concentración de Privigen® (IgG humana) en cada muestra se determinó mediante un ensayo LC-MS2 ascendente. Las muestras de plasma se enriquecieron con SiluMAB MSQC7 para tener en cuenta las pérdidas y las interferencias en la cuantificación de Privigen®

Posteriormente, las muestras se diluyeron, redujeron, carbamidometilaron y se precipitaron las proteínas. Los sedimentos obtenidos se digirieron con tripsina y los péptidos sustitutos resultantes se analizaron mediante LC-MS2 usando cromatografía de fase inversa para la separación y un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo para la detección. Ambos instrumentos se hicieron funcionar de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se utilizó una transición de reacción múltiple correspondiente a un péptido único del dominio constante de la cadena ligera de anticuerpos humanos como sustituto de la concentración de Privigen®.

Las áreas de los picos cromatográficos se determinaron automáticamente con un software dedicado (Analyst® o SciexOS®, ambos de Sciex™). Las relaciones entre el área del analito (Privigen® o antagonista de FcRn) y el área del patrón interno correspondiente en la misma muestra se calcularon e interpolaron en la curva de calibración correspondiente.

EJEMPLO 7**Estudio farmacodinámico (PD) *in vivo*: evaluación del potencial de eliminación de hIgG de diferentes formatos de antagonistas de FcRn en ratones transgénicos de FcRn**

Se realizó un estudio con ratones Tg32 (B6.Cg-Fcgrtm1Dcr Tg(FCGRT) 32Dcr/DcrJ) para determinar el potencial de los antagonistas de FcRn, enumerados en el Ejemplo 5 y la Figura 4, para eliminar hIgG, en forma de Privigen®, de plasma de ratón. Para alcanzar niveles endógenos relevantes de hIgG en ratones Tg32, a estos se les inyectó por vía intravenosa en la cola 500 mg/kg de Privigen®. 48 h después de la administración de Privigen®, a 3-6 ratones/grupo se les inyectó por vía intravenosa en la cola PBS (grupo de placebo), 20 mg/kg de antagonista de FcRn TPP-122902, o una cantidad equimolar de los otros antagonistas de FcRn enumerados en detalle anteriormente y en la Figura 4.

La sangre se recuperó en serie mediante micromuestras en diferentes momentos (0.08 h, 1 h, 6 h, 24 h, 2 d, 5 d, 8 d, 14 d, 21 d; n = 3 ratones por momento para construcciones y n=6 para grupo PBS) y se preparó plasma. Las muestras de plasma se analizaron mediante LC-MS/MS cuantitativa para detectar la presencia de Privigen®, como se describe en el Ejemplo 6. Los valores de AUC para Privigen® se obtuvieron a partir de análisis no compartimentales en Phoenix WinNonlin® (versión 8.2.2.227. Certara) utilizando el módulo de datos de plasma.

Los perfiles de concentración media (SD) de Privigen® frente a tiempo de animales tratados con construcciones antagonistas de PBS o FcRn se muestran en las Figuras 5-10. La Figura 5 proporciona los perfiles de concentración de Privigen® frente a tiempo compilados para todas las construcciones basándose en un dominio Fc antagonista, mientras que las Figuras 6-10 resaltan subconjuntos de antagonistas de FcRn de la presente invención en comparación con placebo o construcciones de referencia.

Se determinaron las AUC medias de Privigen® y se calculó el % de reducción en la exposición a Privigen®. Los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Eliminación de Privigen®

Tratamiento	Dosis del antagonista de FcRn (mg/kg)	AUC _{last} PRIVIGEN (h*ug/ml)	% de reducción en exposición a Privigen®
PBS	-	951000	-
TPP-122902	20	453000	52
TPP-122903	31	192000	80
TPP-122904	31	NA	NA
TPP-122905	25	NA	NA
TPP-122907	25	135000	86
TPP-122908	25	238000	75
TPP-122909	25	316000	67
TPP-122910	31	231000	76

TPP-122912	31	396000	58
TPP-122914	55	249000	74
TPP-122946	15.5	347000	64
TPP-122947	15.5	131000	86

5 NA: No analizado

Podemos concluir a partir de los resultados que la fusión de al menos un ISVD no antagonista de FcRn (que no compite con la unión de IgG a FcRn) o una estructura alternativa a un Fc antagonista de FcRn existente da como resultado un antagonismo de FcRn mejorado en comparación con el Fc antagonista solo, como lo demuestra el aumento de la eliminación de hlgG en un modelo de ratón transgénico relevante. De manera similar, la combinación de un ISVD no antagonista de FcRn con un ISVD antagonista de FcRn produce un aumento de la eliminación de hlgG en comparación con el ISVD antagonista de FcRn solo.

PUNTOS DE LA PRESENTE INVENCION

La presente invención proporciona los siguientes puntos

1. Un antagonista de FcRn que comprende:

- a) al menos un primer polipéptido que se une específicamente a un epítipo del receptor de Fc (FcRn); y
- b) al menos un segundo polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

2. El antagonista de FcRn según el punto 1, en donde los al menos dos polipéptidos (a) y (b) comprendidos en el antagonista de FcRn muestran un efecto sinérgico o cooperativo, preferiblemente en donde el efecto sinérgico o cooperativo permite una unión mejorada y/o una vida media similar de los antagonistas de FcRn, preferiblemente una vida media mejorada de los antagonistas de FcRn, en comparación con la unión y/o la vida media de cada uno de los al menos dos polipéptidos (a) y (b) por sí solos.

3. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 o 2, en donde el al menos un primer polipéptido como se define en (a) compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

4. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 3, en donde el al menos un primer polipéptido como se define en (a) no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn, preferiblemente en donde el al menos un primer polipéptido como se define en (a) comprende o consiste en Affibody®, un scFv, un Fab, una proteína repetida de anquirina diseñada (DARPin®), una Nanofitin® (también conocida como afitina) y una secuencia de dominio variable de inmunoglobulina (ISVD), preferiblemente en donde, si el al menos un primer polipéptido como se define en (a) comprende o consiste en un scFv, el scFv comprende o consiste en la SEQ ID NO: 201.

5. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 4, en donde el al menos un primer polipéptido como se define en (a) comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD).

6. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 4, en donde el al menos un primer polipéptido como se define en (a) comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo.

7. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 5, en donde el antagonista de FcRn comprende:

a) al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD) que se une específicamente a un epítipo en el receptor de Fc (FcRn), en donde el ISVD no compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn; y

b) al menos un polipéptido que compite con la región Fc de IgG1 de tipo salvaje por la unión a FcRn.

8. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 7, en donde el al menos un ISVD no compite con la albúmina sérica humana (HSA) de tipo salvaje por la unión a FcRn.

9. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 8, en donde el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos uno de los siguientes residuos de aminoácidos 1A, 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 204Y, 205P, 206P, 207E, 208L, 209Q, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y/o 262P, estando numerados los residuos de aminoácidos según la SEQ ID NO: 1.

10. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 9, en donde el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) es un anticuerpo o un fragmento del mismo.

11. El antagonista de FcRn según el punto 10, en donde el anticuerpo o un fragmento del mismo es un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo de fusión, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano o un anticuerpo monocaténario.

12. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 11, en donde el al menos un polipéptido tal como se define en (b) comprende o consiste en un dominio variable único de inmunoglobulina (ISVD), preferiblemente en donde el ISVD comprende una CDR1 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155, una CDR2 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 y una CDR3 (numeración AbM) que es la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157, más preferiblemente en donde el ISVD comprende o consiste en la SEQ ID NO: 158 (T0263201B05(E1D),

DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMGWVRQAPGKGLEVVSYSYSSDGGGETSYADSVKGRF TISRDNAKNMLYLQMSSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLTVSS) o 168 (T0263201B05, EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMGWVRQAPGKGLEVVSYSYSSDGGGETSYADSVKGRF TISRDNAKNMLYLQMSSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLTVSS).

13. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 11, en donde el al menos un polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en un dominio Fc o un fragmento del mismo, preferiblemente un dominio Fc dimérico o un fragmento del mismo, más preferiblemente un dominio Fc heterodimérico.

14. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 13, en donde el al menos un polipéptido como se define en (b) se une específicamente a FcRn con afinidad aumentada con respecto a una región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

15. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 14, en donde el al menos un polipéptido como se define en (b) se une específicamente a FcRn con afinidad aumentada a un pH ácido y a un pH fisiológico extracelular con respecto a una región Fc de IgG de tipo salvaje, opcionalmente en donde el pH ácido es aproximadamente 6.0 y opcionalmente en donde el pH no ácido es aproximadamente 7.4.

16. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 15, en donde el al menos un polipéptido como se define en (b) se une específicamente a FcRn con dependencia del pH reducida con respecto a una región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

17. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 16, en donde el al menos un polipéptido como se define en (b) tiene afinidad alterada (aumentada o disminuida) por CD16 en comparación con una región Fc de IgG1 de tipo salvaje.

18. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 13 a 17, en donde el dominio Fc o fragmento del mismo comprende al menos uno, preferiblemente todos, de los siguientes aminoácidos en las siguientes posiciones:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
 - b) una treonina (T) en la posición del aminoácido 254,
 - c) un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
 - d) una lisina (K) en la posición del aminoácido 433,
 - e) una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434, y/o
 - f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 436;
- según la numeración EU.

19. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 13 a 17, en donde el dominio Fc o fragmento del mismo comprende una combinación de los siguientes cuatro residuos de aminoácido:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252,
 - b) un ácido aspártico (D) o un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256,
 - c) un triptófano (W) o una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307, y
 - d) una fenilalanina (F) o una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;
- según la numeración EU.

20. El antagonista de FcRn según el punto 19, en donde el dominio Fc o fragmento del mismo comprende una combinación de residuos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en:

- a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;

b) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256, un triptófano (W) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;

5 c) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido glutámico (E) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434;

d) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434;

10 e) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, un triptófano (W) en la posición del aminoácido 307 y una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434; y

15 f) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, un triptófano (W) en la posición del aminoácido 307 y una fenilalanina (F) en la posición del aminoácido 434,

preferiblemente, en donde el dominio Fc o fragmento del mismo comprende una combinación de residuos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en:

a) una tirosina (Y) en la posición del aminoácido 252, un ácido aspártico (D) en la posición del aminoácido 256, una glutamina (Q) en la posición del aminoácido 307 y una
20 tirosina (Y) en la posición del aminoácido 434.

21. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 18 a 20, en donde el al menos un segundo polipéptido como se define en (b) comprende o consiste en la SEQ ID NO: 22-24 y/o 119-123, preferiblemente SEQ ID NO: 23, 24 o 119-123.

22. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 21, en donde el epítipo de
25 FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

- a) 4H y 5L, y/o
- b) 98L, 99G, 100P, 101D y 102N, y/o
- c) 167L, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o
- 30 d) 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A y 262P,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

23. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 22, en donde el epítipo de
FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos una de las siguientes combinaciones de
residuos de aminoácido:

- 35 a) 2E, 3S, 4H y 5L, y/o
- b) 97E, 98L, 99G, 100P, 101D y 102N, y/o
- c) 98L, 99G, 100P, 101D, 102N y 103T, y/o
- d) 167L, 168E, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o

e) 205P, 206P y 207E, y/o

f) 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y 262P,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

24. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 23, en donde el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos una de las siguientes combinaciones de residuos de aminoácido:

a) 1A, 2E, 3S, 4H y 5L, y/o

b) 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E y 177K, y/o

c) 204Y, 205P, 206P y 230E, y/o

d) 205P, 206P, 207E y 208L,

en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

25. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 24, en donde el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos los siguientes residuos de aminoácidos 4H, 5L, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 167L, 171R, 174L, 175E, 177K, 207E, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

26. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 25, en donde el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos los siguientes residuos de aminoácidos 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 205P, 206P, 207E, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

27. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 26, en donde el epítipo de FcRn al que se une el al menos un ISVD comprende al menos los siguientes residuos de aminoácidos 1A, 2E, 3S, 4H, 5L, 32P, 97E, 98L, 99G, 100P, 101D, 102N, 103T, 164R, 167L, 168E, 171R, 174L, 175E, 177K, 204Y, 205P, 206P, 207E, 208L, 209Q, 255Q, 256H, 257A, 259L, 260A, 261Q y 262P, en donde los residuos de aminoácidos están numerados según la SEQ ID NO: 1.

28. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 27, en donde el al menos un ISVD se une específicamente al epítipo de FcRn de una manera dependiente del pH, de modo que la afinidad de unión a un pH ácido (tal como entre 5.0 y 6.8) es al menos tres veces mayor que la afinidad de unión a un pH fisiológico extracelular (tal como un pH de aproximadamente 7.4).

29. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 28, en donde el al menos un ISVD que se une específicamente al epítipo de FcRn se une específicamente a residuos de aminoácidos en FcRn que no están implicados en la unión de FcRn a la albúmina sérica y/o que no están implicado en la unión de FcRn a IgG.

30. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 29, en donde el al menos un ISVD que se une específicamente al epítipo de FcRn consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente) y en donde:

a) CDR1 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 [=G F T F S S Y A M Y] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 "diferencia(s) de aminoácidos" (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 11; y

b) CDR2 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 [= A I S S G G G S T D] y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 "diferencia(s) de aminoácidos" (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 12; y

c) CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 [= D T L Y T S L T S Y S Y], y/o tiene una secuencia de aminoácidos que tiene 4, 3, 2 o solo 1 "diferencia(s) de aminoácidos" (como se define en el presente documento) con la secuencia de SEQ ID NO: 13 o la CDR3 (de acuerdo con AbM) tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 189.

31. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 5 a 30, en el que el al menos un ISVD comprende o consiste en SEQ ID NO: 14 (T0263018B11-precursor, EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTWYSYWGQGLTVTVSS), SEQ ID NO: 15 (T0263018B11-W100cS, EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGLTVTVSS), SEQ ID NO: 185 (T0263018B11(E1D,W100cS), DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLTSYSYWGQGLTVTVSS),SEQ ID NO: 186 (T0263018B11(Y79S,T100bE,W100cS)),EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAP GKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRFTISRDNSKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYW GQGLTVTVSS), SEQ ID NO: 187 (T0263018B11(D1E, Y79S,T100bE,W100cS), DVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSTDYADSVKGRF TISRDNSKNTLSLQMNSLRPEDTALYYCAADTLYTSLESYSYWGQGLTVTVSS), SEQ ID NO: SEQ ID NO: 131 (T0263091D07, EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFSFSDYYMYWVRQAPGKGLEWVSAISSGGGSSTYYADSVKGRF TISRDNSKNTVYLQMNSLRPEDTALYYCAADYLSVPDPSYEWGQGLTVTVSS) or SEQ ID NO: 144 (T0263204B12, EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVLCISSSGDSTYYADSVKGRFTI SRDNAKNTVYLQMDSLNPEDTAVYYCAVDPPSYWTGTGCLYGYRYWGQGLTVTVSS), or SEQ ID NO: 158 (DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMGWVRQAPGKGLEWVSYISSDGGGETSYADSVKGR FTISRDNAKNMLYLQMSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGLTVTVSS), o SEQ ID NO: 168

(EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGMGVRQAPGKGLEVVSYSYSSDGGGETSYADSVKGR FTISRDNNAKNMLYLQMSSSLKLEDTALYYCAKGGVRGQGTLTVSS).

32. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 31, en donde el antagonista comprende además al menos una fracción adicional, preferiblemente al menos un ISVD adicional, tal como un ISVD que se une específicamente a la albúmina sérica (humana), y/o un ISVD que se une específicamente a una diana terapéutica, preferiblemente al menos un ISVD que se une específicamente a albúmina sérica (humana).

33. El antagonista de FcRn según el punto 32, en donde el al menos un ISVD adicional comprendido en el mismo consiste en 4 regiones marco (FR1 a FR4 respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), y en donde:

CDR1 es SFGMS (SEQ ID NO: 16),

CDR2 es SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO: 17) y

CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 18),

en donde las secuencias CDR se determinan según Kabat; y/o

en donde

CDR1 es GFTFRSFGMS (SEQ ID NO: 19),

CDR2 es SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 20) y CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 21),

en donde las secuencias CDR se determinan de acuerdo con la numeración AbM.

34. Una composición que comprende un antagonista de FcRn como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 33.

35. La composición según el punto 34, en donde la composición es una composición farmacéutica.

36. Método para producir un antagonista de FcRn como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 33, en donde el método comprende las etapas de:

a) expresar, en una célula hospedadora u organismo hospedador adecuado o en otro sistema de expresión adecuado, una secuencia de ácido nucleico que codifica el antagonista de FcRn como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 33; opcionalmente seguido de:

b) aislar y/o purificar el antagonista de FcRn como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 33.

37. Ácido nucleico o secuencia de ácido nucleico que codifica un antagonista de FcRn como se define en uno cualquiera de los puntos 1 a 33.

38. Vector que comprende un ácido nucleico o una secuencia de ácido nucleico como se define en el punto 37.

39. Hospedador o célula hospedadora no humano(a) que comprende un vector que comprende una secuencia de ácido nucleico como se define en el punto 36 o que expresa una secuencia de ácido nucleico como se define en el punto 38.

40. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 33, o la composición según uno cualquiera de los puntos 34 a 35 para su uso como un medicamento.

41. El antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 33, o la composición según uno cualquiera de los puntos 34 a 35 para su uso en el tratamiento de un trastorno mediado por IgG.

5 42. El antagonista de FcRn, para su uso según el punto 41, en donde el trastorno mediado por IgG es una enfermedad autoinmunitaria.

43. El antagonista de FcRn o composición para su uso según el punto 42, en donde la enfermedad autoinmunitaria se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de injerto contra hospedador (GVHD), lupus eritematoso sistémico (SLE), miastenia grave, esclerosis sistémica (SSc)/esclerodermia, artritis reumatoide, artritis psoriásica, osteoartritis, diabetes, esclerosis múltiple, 10 pénfigo vulgar, dermatitis atópica, psoriasis, asma, alergia, fibrosis pulmonar idiopática (IPF), púrpura trombocitopenia idiopática (ITP) e hidradenitis supurativa.

44. El antagonista de FcRn o composición para su uso según el punto 42, en donde el trastorno mediado por IgG es hiperglobulinemia.

15 45. Un antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 33 o la composición según uno cualquiera de los puntos 34 a 35 para su uso en la reducción de los niveles séricos de un agente que contiene Fc en un sujeto al que se le ha administrado el agente que contiene Fc, en donde dicho polipéptido o composición se administra simultánea o secuencialmente a dicho sujeto.

20 46. Kit que comprende un antagonista de FcRn según uno cualquiera de los puntos 1 a 33, un ácido nucleico o secuencia de ácido nucleico según el punto 37, un vector según el punto 38, o una célula hospedadora según el punto 39.

25

30

35