

PROTEÍNAS DE UNIÓN MULTIESPECÍFICAS QUE SE UNEN A DECTINA-1 Y TROP-2 Y MÉTODOS DE USO DE ESTAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 63/530,018, presentada el 31 de julio de 2023, cuyas divulgaciones se incorporan en sus totalidades al presente documento mediante referencia.

REFERENCIA A UN LISTADO DE SECUENCIAS ELECTRÓNICO

[0002] El contenido del listado de secuencias electrónico (186542001040seqlist.xml; tamaño: 111 873 bytes; y fecha de creación: 26 de julio de 2024) se incorpora en su totalidad al presente documento mediante referencia.

CAMPO

[0003] La presente divulgación se refiere a moléculas de unión biespecíficas que comprenden un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana, así como a métodos, polinucleótidos, vectores, células hospedadoras, composiciones y usos relacionados con estos.

ANTECEDENTES

[0004] La fagocitosis es un mecanismo importante utilizado para eliminar patógenos y restos celulares. Los fagocitos profesionales, tales como los monocitos, los macrófagos, las células dendríticas y los granulocitos, reconocen y engullen específicamente agentes del hospedador o extraños que son anómalos o causan enfermedades. El material engullido se destruye a través de la vía endolisosomal en los fagocitos. Además, las células dendríticas y los macrófagos pueden presentar antígenos a las células del sistema inmunitario adaptativo para promover aún más la eliminación de los agentes causantes de enfermedades. La Dectina-1 es un receptor de lectina de tipo C que reconoce betaglucanos y promueve actividades fagocíticas antifúngicas. Se expresa en los fagocitos y se ha demostrado claramente que es suficiente para activar la fagocitosis. La Dectina-1 puede aprovecharse para la fagocitosis dirigida por anticuerpos y la eliminación de agentes causantes de enfermedades.

[0005] Trop-2 (transductor de la señal de calcio asociado a tumores 2, también conocido como glucoproteína epitelial-1) es una glucoproteína transmembranaria que se sabe que se sobreexpresa en muchos tipos de cáncer (véase, por ejemplo, Shvartsur, A. y Bonavida, B.

(2015) *Genes Cancer* 6(3-4):84-105). Se ha descubierto que la sobreexpresión de Trop-2 impulsa el crecimiento del cáncer a través de varias vías, incluida la activación de ERK/MAPK. En muchos tipos de cáncer, la sobreexpresión de Trop-2 se ha relacionado con una menor supervivencia, una mayor agresividad tumoral y metástasis. Los cánceres en los que se ha observado una sobreexpresión de Trop-2 incluyen el cáncer de mama, el cáncer de cuello uterino, el cáncer colorrectal, el cáncer endometrioide endometrial, el cáncer esofágico, el cáncer gástrico, el glioma, el colangiocarcinoma, el linfoma linfocítico crónico (CLL), el linfoma extraganglionar de células NK/T, el linfoma no hodgkiniano, el cáncer de ovario, el cáncer de próstata, el cáncer de páncreas, el cáncer de tiroides, el cáncer de vejiga y el cáncer de útero. Los anticuerpos y los conjugados anticuerpo-fármaco dirigidos a Trop-2 se encuentran en pruebas clínicas, incluidos sacituzumab govitecán, datopotamab deruxtecán, FDA018-ADC, JS108 y SKB264 (Shastri, M. *et al.* (2022) *Breast* 66:169-177).

[0006] Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de terapias mejoradas que promuevan la infiltración inmunitaria y la eliminación de los cánceres que expresan Trop-2.

[0007] Todas las referencias citadas en el presente documento, incluidas las solicitudes de patentes, publicaciones de patentes y bibliografía científica, se incorporan en su totalidad al presente documento mediante referencia, como si cada referencia individual se indicara específica e individualmente como incorporada mediante referencia.

BREVE COMPENDIO

[0008] La presente divulgación se refiere a moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) que comprenden un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana, así como a métodos, polinucleótidos, vectores, células hospedadoras, composiciones y usos relacionados con estos. Las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) permiten que el fagocito interactúe con la célula diana que expresa Trop-2 usando el brazo de unión a Trop-2 y forme una sinapsis entre él y promueva la agrupación de Dectina-1 en el fagocito usando el brazo de unión a Dectina-1. Esto estimula la fagocitosis de la célula diana y al mismo tiempo la secreción de citocinas a través de la vía de Dectina-1/Syk/NfκB por parte del fagocito. Además, los antígenos del material engullido se presentan en la superficie de las células dendríticas/los macrófagos para estimular una respuesta inmunitaria adaptativa contra el agente causante de la enfermedad que expresa

Trop-2. En general, se cree que las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación promueven la estimulación inmunitaria, la fagocitosis dirigida y la presentación/activación de neoantígenos del sistema inmunitario adaptativo para eliminar las células causantes de la enfermedad que expresan Trop-2.

5 **[0009]** Como tal, la presente divulgación describe, entre otras cosas, la generación y caracterización funcional de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2. Se descubrió que estos se unen a Trop-2 y Dectina-1 humanas con alta afinidad, además de activar la señalización de Dectina-1 humana. Se probaron varios formatos y se demostró que se unen específicamente a ambas dianas, inducen la fagocitosis y el agotamiento de las células diana
10 que expresan Trop-2 (como las líneas de células cancerosas) e inhiben el crecimiento del tumor en múltiples modelos de ratón preclínicos, incluidos modelos de tipos de tumores “calientes” y “fríos” con respecto a la infiltración de células inmunitarias y la capacidad de respuesta a la inmunoterapia (p. ej., inmunoterapia de agente único).

[0010] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de
15 unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el segundo dominio de unión al antígeno comprende un segundo dominio variable de cadena pesada (VH) y un segundo dominio variable de cadena ligera (VL).

20 **[0011]** En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en la presente, el segundo dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:37, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de
25 aminoácidos de la SEQ ID NO:40, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42. En algunas modalidades, el segundo dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49, y una CDR-H3 que comprende la secuencia
30 de aminoácidos de la SEQ ID NO:50, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, una CDR-L2 que comprende la

secuencia de aminoácidos de GAS, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52. En algunas modalidades, el segundo dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:45, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de GAS, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42. En algunas modalidades, el segundo dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74, y el segundo dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75.

[0012] En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en la presente, el segundo dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:56, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:57, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58. En algunas modalidades, el segundo dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:64, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:65, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:66, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:67, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de AAS, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:68. En algunas modalidades, el segundo dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de AAS, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:68. En algunas modalidades, el segundo dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79, y el segundo dominio VL

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

[0013] En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en este documento, el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende el segundo dominio VH y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende el segundo dominio VL. En algunas modalidades, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo del segundo brazo comprende una región Fc. En algunas modalidades, la región Fc del segundo brazo es una región Fc de IgG humana. En algunas modalidades, la región Fc del segundo brazo es una región Fc de IgG1 humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones S239D e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones S239D, A330L e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones G236A, S239D, A330L e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc del segundo brazo es una región Fc de IgG4 humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG4 humana que comprende una sustitución S228P, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, el primer brazo comprende una región Fc; en donde la región Fc del primer brazo comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la región Fc del segundo brazo comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines. En algunas modalidades, la región Fc del primer brazo comprende una sustitución T366W, y en donde la región Fc del segundo brazo comprende sustituciones T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, el primer brazo comprende una región Fc; en donde la región Fc del segundo brazo comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la región Fc del primer brazo comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines. En algunas modalidades, la región Fc del segundo brazo comprende una sustitución T366W, y en donde la región Fc del primer brazo comprende sustituciones T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con la numeración de la UE.

[0014] En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en este documento, el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

En algunas modalidades, el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

- 5 **[0015]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

- [0016]** En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en este documento, el primer dominio de unión al antígeno comprende un primer dominio variable de cadena pesada (VH) y un primer dominio variable de cadena ligera (VL). En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de GAS, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24, y el primer dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:25.

- 5 **[0017]** En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en la presente, el primer dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:21, y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22, y el segundo dominio VL comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de GAS, y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:26, y el primer dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:27. En algunas modalidades, el primer dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, y el primer dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:31.
- 10 **[0018]** En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en este documento, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende el primer dominio VH y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
- 15
- 20
- 25
- 30

comprende el primer dominio VL. En algunas modalidades, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo del primer brazo comprende una región Fc. En algunas modalidades, el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que comprende el primer dominio VH y el primer dominio VL. En algunas modalidades, el scFv comprende un enlazador entre el primer dominio VH y el primer dominio VL. En algunas modalidades, el scFv comprende la

5 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:34. En algunas modalidades, el primer brazo comprende además una región Fc enlazada al scFv. En algunas modalidades, la región Fc del primer brazo es una región Fc de IgG humana. En algunas modalidades, la región Fc del primer brazo es una región Fc de IgG1 humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región

10 Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones S239D e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones S239D, A330L e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones G236A, S239D, A330L e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En

15 algunas modalidades, la región Fc del primer brazo es una región Fc de IgG4 humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG4 humana que comprende una sustitución S228P, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, el segundo brazo comprende una región Fc; en donde la región Fc del primer brazo comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la región Fc del segundo brazo comprende

20 una o más mutaciones formadoras de ojales afines. En algunas modalidades, la región Fc del primer brazo comprende una sustitución T366W, y en donde la región Fc del segundo brazo comprende sustituciones T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, el segundo brazo comprende una región Fc; en donde la región Fc del segundo brazo comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la región Fc del

25 primer brazo comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines. En algunas modalidades, la región Fc del segundo brazo comprende una sustitución T366W, y en donde la región Fc del primer brazo comprende sustituciones T366S, L368A e Y407V, de acuerdo con la numeración de la UE.

[0019] En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en este documento, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo

30 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 u 88 y un polipéptido de

cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89. En algunas modalidades, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111 o 112 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89. En algunas modalidades, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 o 90 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29. En algunas modalidades, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99 o 100 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29. En algunas modalidades, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36. En algunas modalidades, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101 o 102 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:103 o 104.

[0020] En algunas modalidades de acuerdo con cualquiera de las modalidades descritas en este documento, al menos uno o dos del primer y segundo brazo no están fucosilados o comprenden fucosilación reducida. En algunas modalidades, la Dectina-1 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:84 u 85. En algunas modalidades, la Trop-2 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:86.

[0021] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera

de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 u 88, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la
5 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

[0022] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de
10 unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de
15 anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 111 o 112, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105 o 106, y el segundo
20 polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

[0023] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de
25 unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la
30 SEQ ID NO:87 u 88, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de

anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

5 **[0024]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 111 o 112, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107 o 108, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

15 **[0025]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 u 88, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

25 **[0026]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión

al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 111 o 112, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109 o 110, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0027] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 o 90, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

[0028] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer

polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99 o 100, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105 o 106, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

[0029] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 o 90, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

[0030] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99 o 100, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107 o 108, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ

ID NO:78.

5 **[0031]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la
10 SEQ ID NO:28 o 90, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

15 **[0032]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera
20 de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99 o 100, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de
25 anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109 o 110, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

30 **[0033]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende

un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

10 **[0034]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101 o 102, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105 o 106, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

25 **[0035]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

- 5 **[0036]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera
10 de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101 o 102, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de
15 anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107 o 108, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

- [0037]** En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión
20 al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer
25 polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ
30 ID NO:83.

[0038] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de

unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo, y el segundo brazo comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101 o 102, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109 o 110, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0039] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc, y el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

[0040] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc, y el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 o 104, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105 o 106, y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73.

[0041] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc, y el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

[0042] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc, y el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 o 104, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107 o 108, y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78.

[0043] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc, y el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0044] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión biespecífica, que comprende: un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana; en donde el primer brazo comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc, y el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo; y en donde el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 o 104, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109 o 110, y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0045] Además se proporciona en este documento un polinucleótido que codifica la molécula de unión biespecífica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores. Además, en el presente documento se proporciona un vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, p. ej., un vector de expresión. Se proporciona además en el presente documento una célula hospedadora (p. ej., célula hospedadora aislada) que comprende el polinucleótido o vector de acuerdo cualquiera de las modalidades anteriores. En algunas modalidades, la célula es una levadura, insecto, planta o célula procariota. En algunas modalidades, la célula hospedadora es una célula mamífera, p. ej., una célula de ovario de hámster chino (CHO). En algunas modalidades, la célula hospedadora comprende una inactivación de alfa1,6-fucosiltransferasa (Fut8) o alfa-1,3-manosil-glucoproteína 2-beta-N-acetilglucosaminiltransferasa (MGAT1). En algunas modalidades, la célula hospedadora sobreexpresa β 1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnT-III) y opcionalmente sobreexpresa además μ -manosidasa II de Golgi (ManII). Se proporciona además en el presente documento un método para producir una molécula de unión biespecífica, que comprende cultivar la célula hospedadora de acuerdo cualquiera de las modalidades anteriores en condiciones adecuadas para la producción de la molécula de unión biespecífica. En algunas modalidades, el método comprende además recuperar la molécula de unión biespecífica de la célula hospedadora. En algunas modalidades, antes de la producción de la molécula de unión biespecífica, la célula hospedadora se trata con kifunensina. Se proporciona además en el presente documento una molécula de unión biespecífica producida mediante el método de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores. Se proporciona además en el presente documento una composición

farmacéutica que comprende la molécula de unión biespecífica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0046] Se proporciona además en el presente documento un método para el tratamiento del cáncer, que comprende administrar una cantidad eficaz de la molécula de unión biespecífica o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores a un individuo que lo necesita. Se proporciona además en el presente documento la molécula de unión biespecífica o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores para su uso en un método para el tratamiento del cáncer, dicho método comprende administrar una cantidad eficaz de la molécula de unión biespecífica o la composición farmacéutica a un individuo que lo necesita. Se proporciona además en el presente documento el uso de la molécula de unión biespecífica o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un individuo. En algunas modalidades, el individuo tiene o ha sido diagnosticado cáncer. En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer sólido. En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer urotelial, cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de endometrio, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de piel (p. ej., melanoma), cáncer de pulmón, cáncer de ovario o cáncer de útero. En algunas modalidades, el cáncer es carcinoma de células escamosas de cuello uterino, carcinoma urotelial de vejiga, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), carcinoma de células escamosas de esófago, adenocarcinoma endocervical, carcinoma de células escamosas de pulmón, adenocarcinoma de próstata, cáncer papilar de tiroides, carcinoma mucinoso, carcinoma endometrioide, adenocarcinoma pancreático, carcinoma lobulillar infiltrante de mama, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma endometrioide uterino, cáncer de ovario seroso, carcinoma infiltrante de mama (NOS), carcinoma ductal infiltrante de mama, carcinoma seroso uterino, cáncer de mama metaplásico, carcinoma endometrial mixto uterino, carcinoma mucinoso mixto infiltrante de mama, carcinoma papilar de células renales, adenocarcinoma de esófago, adenocarcinoma de estómago, carcinoma infiltrante de mama, colangiocarcinoma intrahepático, colangiocarcinoma, adenocarcinoma tubular de estómago, adenocarcinoma de estómago de tipo intestinal, adenocarcinoma mucinoso de estómago, adenocarcinoma papilar de estómago, adenocarcinoma de estómago de tipo difuso, teratoma,

carcinoma de células en anillo de sello del estómago, adenocarcinoma mucinoso del colon/recto, carcinosarcoma uterino, adenocarcinoma rectal, timoma o colangiocarcinoma perihiliar. En algunas modalidades, las células del cáncer expresan Trop-2. En algunas modalidades, el individuo es un ser humano. En algunas modalidades, el cáncer responde a la inmunoterapia de agente único (p. ej., tratamiento de agente único con inhibidor del punto de control inmunitario), p. ej., antes de la administración de la molécula de unión biespecífica. En algunas modalidades, el cáncer no responde a la inmunoterapia de agente único (p. ej., tratamiento de agente único con inhibidor del punto de control inmunitario), p. ej., antes de la administración de la molécula de unión biespecífica.

[0047] Además se proporciona en este documento un kit comprende la molécula de unión biespecífica o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las modalidades anteriores. En algunas modalidades, el kit comprende además instrucciones para usar la molécula de unión biespecífica o la composición farmacéutica para tratar el cáncer en un individuo, p. ej., de acuerdo con cualquiera de los métodos divulgados en este documento.

[0048] Se entenderá que una, algunas o todas las propiedades de las diversas modalidades descritas en el presente documento pueden combinarse para formar otras modalidades de la presente divulgación. Estos y otros aspectos de la presente divulgación resultarán evidentes para un experto en la técnica. Estas y otras modalidades de la presente divulgación se describirán de manera adicional en la descripción detallada que sigue.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0049] Las Figuras 1A-1C muestran formatos ilustrativos para anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2, de acuerdo con algunas modalidades. La **Figura 1A** muestra una modalidad en la cual ambos brazos comprenden Fabs (Fab/Fab). Los disulfuros modificados genéticamente también se pueden utilizar en este formato para impulsar el emparejamiento de los dominios variables de cadena pesada y ligera correctos. Por ejemplo, se pueden eliminar de un brazo las cisteínas que forman puentes disulfuro nativos entre cadenas pesadas y ligeras, y se pueden introducir sustituciones de cisteína para dar lugar a puentes disulfuro no nativos. El otro brazo puede tener puentes disulfuro nativos, lo que permite distinguir los dominios variables de cada brazo por su posición. La **Figura 1B** muestra una modalidad que presenta un puente disulfuro intercatenario modificado genéticamente en el brazo de unión de Dectina-1 entre los dominios VH y VL, mientras que el brazo de unión de Trop-2 presenta el disulfuro

intercatenario nativo entre los dominios CH1 y CL (los puentes disulfuro intercatenarios se indican con flechas). **La Figura 1C** muestra una modalidad en la que un brazo (en este caso, el brazo anti-Dectina-1) comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), y el otro brazo (en este caso, el brazo anti-Trop-2) comprende un Fab (scFv/Fab). En todos los ejemplos, el anticuerpo biespecífico comprende además una región Fc (en este ejemplo, IgG1 humana).

[0050] Las Figuras 2A-2D muestran ensayos de unión en los que las células que expresan Trop-2 humano se incubaron con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) o control de isotipo, y la unión se midió mediante citometría de flujo utilizando un anticuerpo secundario anti-humano marcado con fluorescencia. Se muestran la unión de los anticuerpos indicados a células de carcinoma epidermoide humano A-431 (**Figura 2A**), células de carcinoma gástrico humano NCI-N87 (**Figura 2B**), células de cáncer de mama humano SKBR3 (**Figura 2C**) o células CHO-K1 que expresan Trop-2 humana (**Figura 2D**).

[0051] Las Figuras 3A-3D muestran la activación de la vía Dectina-1 por anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) o control de isotipo. Las líneas celulares de cáncer humano que expresan hTrop-2 se trataron con una dilución en serie del anticuerpo biespecífico indicado o un control de isotipo en presencia de células HEK-Blue hDectina-1a modificadas genéticamente para expresar la isoforma A de Dectina-1 y genes que participan en la vía de señalización Dectina-1/NF- κ B/SEAP (expresando así una fosfatasa alcalina secretada (SEAP) en respuesta a la estimulación por ligandos de Dectina-1). Se muestran la activación de la señalización de Dectina-1 en células HEK-Blue hDectina-1a (medida por SEAP) en presencia de células A-431 (**Figura 3A**), células NCI-N87 (**Figura 3B**), células SKBR3 (**Figura 3C**) o células CHO-K1 que expresan Trop-2 humana (**Figura 3D**) tras la incubación con el anticuerpo indicado.

[0052] Las Figuras 4A-4C muestran la unión celular y la activación de Dectina-1 por anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) o un control de isotipo utilizando el formato scFv que se muestra en la **Figura 1C**. La **Figura 4A** muestra la unión de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados a células HEK que expresan hDectina-1, medida mediante citometría de flujo. La **Figura 4B** muestra la unión de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados a células A431 que expresan hTrop-2, medida mediante citometría de flujo. La **Figura 4C** muestra

la activación de Dectina-1 por los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados, medida por secreción de SEAP; también se muestran los valores de EC50.

[0053] Las Figuras 5A-5C muestran la unión celular y la activación de Dectina-1 por anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) o control de isotipo usando el formato Fab que se muestra en la **Figura 1B** con disulfuros modificados genéticamente en el brazo anti-Dectina-1. **La Figura 5A** muestra la unión de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados a células HEK que expresan hDectina-1 como se midió mediante citometría de flujo. **La Figura 5B** muestra la unión de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados a células CHO-K1 que expresan hTrop-2 como se midió mediante citometría de flujo. **La Figura 5C** muestra la activación de Dectina-1 por los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados medida por secreción de SEAP; también se muestran los valores de EC50

[0054] Las Figuras 6A-6C muestran la inducción de fagocitosis por anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) o control de isotipo usando el formato Fab que se muestra en la **Figura 1A**. Los macrófagos humanos y las células cancerosas humanas marcadas con calceína AM se cocultivaron (relación 3:1) en presencia del anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicado a 37 °C durante 24 horas, luego se tiñeron con anticuerpo anti-CD206 marcado con PE para marcar los macrófagos. La fagocitosis se cuantificó como el porcentaje de células cancerosas FITC+ engullidas por macrófagos en la ventana de adquisición individual. Los anticuerpos se analizaron en dilución en serie. **La Figura 6A** muestra la fagocitosis de células A431 por macrófagos humanos inducida por los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados o un control de isotipo. **La Figura 6B** muestra la fagocitosis de células NCI-N87 por macrófagos humanos inducida por los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados o un control de isotipo. **La Figura 6C** muestra la fagocitosis de células SKBR3 por macrófagos humanos inducida por los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicados o un control de isotipo.

[0055] Las Figuras 7A-7D muestran la secreción de citocinas por PBMC cocultivadas con células CHO-K1 que expresan hTrop-2 en respuesta al tratamiento con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) o control de isotipo utilizando el formato Fab que se muestra en la **Figura 1A**. La respuesta a la dosis de la

secreción de TNF-alfa al tratamiento con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) se muestra en la **Figura 7A**. La respuesta a la dosis de la secreción de IL-6 al tratamiento con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) se muestra en la **Figura 7B**. La respuesta a la dosis de la secreción de IFN-gamma al tratamiento con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de IgG1 humana (como se indica) se muestra en la **Figura 7C**. El resumen de todas las citocinas que utilizan PBMC de ambos donantes se muestra en la **Figura 7D**.

[0056] Las Figuras 8A y 8B muestran la actividad de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 (utilizando el brazo anti-Dectina-1 de ratón y Fc de IgG2a de ratón) en modelos de xenoinjerto de tumor de ratón singénico. Se inocularon por vía subcutánea ratones Balb/c hembra de ocho semanas de edad o ratones C57BL6 con 2 millones de células de cáncer de colon de ratón que sobreexpresaban Trop2 humana (hTrop2-CT26) o 0,5 millones de células de cáncer de melanoma de ratón que sobreexpresaban Trop2 humana (hTrop2-B16F10), respectivamente. Cuando los tumores alcanzaron los 80 mm³, los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos de 12 ratones cada uno y recibieron seis dosis de anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fab anti-mDectina-1 ("Dectina-1 sust") y clon A, B o C anti-Trop-2 junto con Fc de mIgG2a (o control de isotipo) por vía intraperitoneal a 10 mg/kg dos veces por semana. El volumen tumoral y el peso corporal se midieron 2-3 veces por semana. **La Figura 8A** muestra la mediana del crecimiento del volumen tumoral en ratones inoculados con células hTrop-2-CT26 tratadas con el anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 o el control de isotipo mIgG2a. **La Figura 8B** muestra la mediana del crecimiento del volumen tumoral en ratones inoculados con células hTrop-2-B16F10 tratadas con el anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 o el control de isotipo mIgG2a.

[0057] La Figura 9 muestra la actividad de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 (utilizando un brazo anti-hDectina-1 modificado genéticamente con disulfuro y Fc de IgG2a de ratón) contra xenoinjertos tumorales hTrop2-B16F10 en un modelo de ratón singénico con ratones que expresan hDectina-1. Se muestra el volumen tumoral a lo largo del tiempo.

[0058] Las Figuras 10A-10D muestran el agotamiento de células cancerosas en suspensiones de células individuales derivadas de biopsias de tejido mediante anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2. **Las Figuras 10A-10C** muestran el % de células cancerosas restantes (como % de células vivas) tras 24 h de incubación de suspensiones de células individuales con

anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 (como se indica) de biopsias **de cáncer de pulmón (Figura 10A)**, cáncer de ovario **(Figura 10B)** o cáncer de útero **(Figura 10C)**. La **Figura 10D** muestra la expresión promedio (ARNm) de Trop-2 en los tipos de cáncer indicados a partir de los datos del estudio TCGA PanCancer Atlas.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0059] A continuación, se describen varios aspectos con referencia a aplicaciones de ejemplo a modo de ilustración. Debe entenderse que se exponen numerosos detalles, relaciones y métodos específicos para proporcionar una comprensión completa de las características descritas en el presente documento. Sin embargo, alguien con conocimientos habituales en la técnica pertinente reconocerá fácilmente que las características descritas en el presente documento se pueden practicar sin uno o más detalles específicos o con otros métodos. Las características descritas en la presente no están limitadas por el orden ilustrado de actos o eventos, ya que algunos actos pueden ocurrir en diferentes órdenes y/o simultáneamente con otros actos o eventos. Además, no todas las acciones o instancias ilustradas requieren implementar una metodología acorde con las características descritas en el presente documento.

[0060] Tal como se usan en la presente, se pretende que las formas en singular “un/o”, “una” y “el/la” incluyan también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, en la medida en que los términos “que incluye/n”, “incluye”, “que tiene/n”, “tiene”, “con” o variantes de estos se utilizan en la descripción detallada y/o en las reivindicaciones, se pretende que esos términos sean inclusivos de manera similar al término “que comprende/n”. El término “que comprende/n”, tal como se utiliza en el presente documento, es sinónimo de “que incluye/n” o “que contiene/n” y es inclusivo o abierto.

[0061] Se pretende que cualquier referencia a “o” en el presente documento abarque “y/o”, a menos que se indique lo contrario. Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión “alrededor de” con referencia a un número se refiere a ese número más o menos el 10 % de ese número. La expresión “alrededor de” con referencia a un intervalo se refiere a ese intervalo menos el 10 % de su valor más bajo y más el 10 % de su valor más alto.

[0062] En algunas modalidades, “anticuerpo” e “inmunoglobulina” se utilizan de forma intercambiable y, en el presente documento, se utilizan en el sentido más amplio y comprenden diversas estructuras de anticuerpos, lo cual incluye, de modo no taxativo, anticuerpos

monoclonales (por ejemplo, anticuerpos monoclonales intactos o de longitud completa), anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), fragmentos de anticuerpos y anticuerpo de dominio único (como se describe en más detalle en el presente documento), siempre y cuando presenten la actividad de unión al antígeno deseada.

- 5 **[0063]** En algunas modalidades, los anticuerpos (inmunoglobulinas) se refieren a una proteína que tiene una estructura considerablemente similar a una estructura de anticuerpo nativo, o una proteína que tiene regiones variables de cadena pesada y ligera que tienen estructuras sustancialmente similares a las estructuras de la región variable de cadena pesada y ligera nativas. Anticuerpos nativos hace referencia a moléculas de inmunoglobulina de origen natural
- 10 con estructuras variables. Por ejemplo, las inmunoglobulinas nativas de la clase de IgG son glucoproteínas heterotetraméricas de alrededor de 150 000 dáltones, compuestas de dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que se encuentran unidas por puentes disulfuro. Del extremo N al extremo C, cada cadena pesada tiene una región variable (VH), a la que también se hace referencia como dominio variable pesado o dominio variable de cadena pesada,
- 15 seguida de tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3), también denominado una región constante de cadena pesada. De forma similar, del extremo N al extremo C, cada cadena ligera tiene una región variable (VL), a la que también se hace referencia como dominio variable ligero o dominio variable de cadena ligera, seguida de un dominio ligero constante (CL), también denominada región constante de cadena ligera. Las estructuras de las subunidades y las
- 20 configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son ampliamente conocidas y se describen en general, por ejemplo, en Abbas et al., 2000, Cellular and Mol, y Kindt et al., Kuby Immunology, 6.^a ed., W.H. Freeman and Co., página 91 (2007). A los anticuerpos (inmunoglobulinas) se les asignan diferentes clases, dependiendo de las secuencias de aminoácidos de los dominios constantes de cadena pesada. Hay cinco clases
- 25 principales de anticuerpos: α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), γ (IgG) o μ (IgM), algunos de los cuales pueden dividirse en subtipos, por ejemplo, γ 1 (IgG1), γ 2 (IgG2), γ 3 (IgG3), γ 4 (IgG4), α 1 (IgA1) y α 2 (IgA2). La cadena ligera de una inmunoglobulina puede asignarse a uno de dos tipos, kappa (κ) y lambda (λ), con base en la secuencia de aminoácidos de su dominio constante. Una inmunoglobulina consiste esencialmente en dos moléculas Fab y un dominio Fc, enlazados a
- 30 través de la región bisagra de la inmunoglobulina.

[0064] En algunas modalidades, una Fc, región Fc o dominio Fc se refiere a la región del

extremo C de una cadena pesada de anticuerpo que contiene al menos una parte de la región constante. La expresión incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. Una Fc puede referirse a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de región constante (por ejemplo, CH2 y CH3) de IgA, IgD e IgG, los últimos tres dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM y, opcionalmente, la totalidad o una parte de la bisagra flexible de extremo N con respecto a estos dominios. Para IgA e IgM, Fc puede incluir la cadena J. Una región Fc de IgG comprende un dominio CH2 de IgG y CH3 de IgG y, en algunos casos, incluye la bisagra. A menos que se especifique lo contrario en el presente documento, la numeración de los residuos de aminoácidos en la región Fc o la región constante se realiza de acuerdo con el sistema de numeración de la UE, también llamado índice de la UE, como se describe en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Md., 1991. Los dominios Fc de IgG humana son de uso particular en la presente divulgación y pueden ser el dominio Fc de IgG1, IgG2 o IgG4 humana.

[0065] Como se sabe en la técnica, la lisina de extremo C de algunos polipéptidos de cadena pesada de anticuerpo puede escindirse en alguna fracción de moléculas. Por tanto, en algunas modalidades, puede estar presente un brazo o molécula de unión multiespecífica de la presente divulgación (p. ej., en una composición) que comprende una mezcla de especies en las que algunos polipéptidos conservan la lisina de extremo C y otros no.

[0066] Como se sabe en la técnica, los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo tienen generalmente estructuras similares, donde cada dominio comprende cuatro regiones marco (FR) conservadas y tres regiones determinantes de la complementariedad (CDR). (Véase, p. ej., Kindt et al. *Kuby Immunology*, 6.^a ed., W.H. Freeman and Co., página 91 (2007).) Marco (o “FR” como se utiliza en el presente documento) puede referirse a residuos de dominio variable distintos de los residuos de CDR. La FR de un dominio variable consiste generalmente en cuatro dominios FR: FR1, FR2, FR3 y FR4. Por consiguiente, las secuencias de CDR y FR aparecen generalmente en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. En algunas modalidades, una FR1, FR2, FR3 y/o FR4 de la presente divulgación se refiere a una región marco humana, es decir, del dominio VH o VL.

[0067] En la técnica se conocen múltiples definiciones para las secuencias de CDR de dominios

variables de anticuerpos; véase, p. ej., Kabat (*Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, publicación NIH 91-3242, Bethesda MD (1991), tomos 1-3) y Chothia. A menos que se especifique lo contrario, las secuencias de CDR se describen en el presente documento de acuerdo con la definición de IMGT. Véase, p. ej.,
 5 imgt.org/IMGTScientificChart/Nomenclature/IMGT-FRCDRdefinition.html.

[0068] Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, de modo no taxativo, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv, Fab'-SH, F(ab')₂, diacuerpos, anticuerpos lineales, anticuerpos de cadena sencilla, nanocuerpos, fragmentos scFv, VH, y anticuerpos/fragmentos multiespecíficos (p. ej., biespecíficos) formados a partir de fragmentos de anticuerpo.

10 **[0069]** Un “Fab” (fragmento de unión al antígeno) es una porción de un anticuerpo que se une a los antígenos e incluye la región variable y CH1 de la cadena pesada enlazada a la cadena ligera a través de un puente disulfuro intercatenario.

I. Proteínas de unión multiespecíficas

[0070] En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) que comprenden un primer brazo que comprende un primer dominio de unión al antígeno que se une a Dectina-1 humana; y un segundo brazo que comprende un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana. En algunas modalidades, el primer y/o segundo dominio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL). En algunas
 15 modalidades, el segundo brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo (es decir, un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo de la presente divulgación) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo (es decir, un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo de la presente divulgación). En algunas modalidades, el primer brazo comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo (es decir, un primer polipéptido de cadena
 20 pesada de anticuerpo de la presente divulgación) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo (es decir, un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo de la presente divulgación). En algunas modalidades, el primer brazo comprende un anticuerpo de fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc.

[0071] Cualquiera de los brazos o dominios de unión al antígeno anti-Dectina-1 divulgados en este documento se puede utilizar en una molécula de unión de la presente divulgación. Cualquiera de los brazos o dominios de unión al antígeno anti-Trop-2 divulgados en este
 25 30

documento se puede utilizar en una molécula de unión de la presente divulgación. Se describen con más detalle más adelante varias modalidades no taxativas de moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación que comprenden combinaciones específicas de un brazo de unión anti-Dectina-1 y un brazo de unión anti-Trop-2.

Dominios de unión al antígeno anti-Dectina-1

[0072] Se contemplan varios dominios de unión al antígeno anti-Dectina-1 para su uso en las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 es el dominio de unión al antígeno del anticuerpo anti-Dectina-1 2M24, que se describe en la publicación internacional n.º WO2022077006, incluidas sus variantes. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 es un dominio de unión al antígeno humano. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 es un dominio de unión al antígeno humanizado.

[0073] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos DYYI (SEQ ID NO: 1); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO: 2); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos NSGSYSFGY (SEQ ID NO: 3); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 4); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GASSLQS (SEQ ID NO: 5) y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQAYSFPFT (SEQ ID NO: 6).

[0074] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYY (SEQ ID NO: 7); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos INPNSGDT (SEQ ID NO: 8); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos ARNSGSYSFGY (SEQ ID NO: 9); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos QGISSW (SEQ ID NO: 10); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GAS y una CDR-

L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQAYSFPFT (SEQ ID NO: 12).

[0075] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende:

5 una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDY (SEQ ID NO:13); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos NPNSGD (SEQ ID NO: 14); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos NSGSYSFGY (SEQ ID NO: 15); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 4); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos

10 GASSLQS (SEQ ID NO: 5) y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQAYSFPFT (SEQ ID NO: 6).

[0076] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende:

15 una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos DYYM (SEQ ID NO: 16); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos WINPNEGDTNYAQKFEG (SEQ ID NO: 17); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos NTGAYSFGY (SEQ ID NO: 18); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 4); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos

20 GASDLQS (SEQ ID NO: 19) y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQAYGFPFT (SEQ ID NO: 20).

[0077] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende:

25 una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDYY (SEQ ID NO:7); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos INPNEGDT (SEQ ID NO: 21); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos ARNTGAYSFGY (SEQ ID NO: 22); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos QGISSW (SEQ ID NO: 10); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GAS y

30 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQAYGFPFT (SEQ ID NO: 20).

[0078] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-

Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTDY (SEQ ID NO:13); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos NPNEGD (SEQ ID NO: 23); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos NTGAYSFGY (SEQ ID NO: 18); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 4); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GASDLQS (SEQ ID NO: 19) y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQAYGFPFT (SEQ ID NO: 20).

10 **[0079]** En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSSGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY
15 AQKFQGRITMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGYWGGTLTVSS (SEQ ID NO:24) y/o en donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIFGASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLVSSLQPEDFATYYCQQAYSFPFTFGPGTKVDIE (SEQ ID NO:25). En algunas modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos
20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSSGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY AQKFQGRITMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGYWGGTLTVSS (SEQ ID NO:24) y el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIFGASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLVSSLQPEDFATYYCQQAYSFPFTFGPGTKVDIE (SEQ ID NO:25).

25 **[0080]** En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
30 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTLTVSS (SEQ ID NO:26) y/o en donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASDLQSGVPSRF
 SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:27). En
 algunas modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
 5 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSS
 (SEQ ID NO:26) y el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASDLQSGVPSRF
 SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:27).

[0081] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-
 10 Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena
 pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende
 la secuencia de aminoácidos
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSS
 15 (SEQ ID NO:30) y/o en donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKCPKLLIYGASDLQSGVPSRF
 SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:31). En
 algunas modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
 20 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSS
 (SEQ ID NO:30) y el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGIISSWLAWYQQKPGKCPKLLIYGASDLQSGVPSRF
 SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:31).

[0082] En algunas modalidades, un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, un brazo anti-
 25 Dectina-1 o una proteína de unión multiespecífica de la divulgación comprenden un dominio VH
 que comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VH enumerado en la Tabla 5 y/o un dominio
 VL que comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VL enumerado en la Tabla 5. En algunas
 modalidades, un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, un brazo anti-Dectina-1 o una
 proteína de unión multiespecífica de la divulgación comprenden un dominio VH que comprende
 30 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VH enumerado en la Tabla 6 y/o un dominio VL que
 comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VL enumerado en la Tabla 6. En algunas

modalidades, un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, un brazo anti-Dectina-1 o una proteína de unión multiespecífica de la divulgación comprenden un dominio VH que comprende un dominio VH y/o VL enumerado en la Tabla 6. En algunas modalidades, cualquier conjunto de 3 VH CDR que se muestran en la Tabla 5 puede combinarse con cualquier conjunto de 3 VL CDR que se muestra en la Tabla 5 en un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, brazo anti-Dectina-1 o proteína de unión multiespecífica de la presente divulgación. En algunas modalidades, cualquier conjunto de 3 CDR de un dominio VH mostrado en la Tabla 6 puede combinarse con cualquier conjunto de 3 CDR de un dominio VL mostrado en la Tabla 6 en un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, brazo anti-Dectina-1 o proteína de unión multiespecífica de la presente divulgación. En algunas modalidades, cualquier dominio VH mostrado en la Tabla 6 puede combinarse con cualquier dominio VL mostrado en la Tabla 6 en un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, brazo anti-Dectina-1 o proteína de unión multiespecífica de la presente divulgación.

Tabla 5. Secuencias de CDR de anticuerpos anti-Dectina-1

Nombre	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
2M24 (Kabat)	DYYI (SEQ ID NO: 1)	WINPNSGDTNY AQKFQG (SEQ ID NO: 2)	NSGSYSFG Y (SEQ ID NO: 3)	RASQGISSW LA (SEQ ID NO: 4)	GASSLQS (SEQ ID NO: 5)	QQAYSFPF T (SEQ ID NO: 6)
2M24 (IMGT)	GYTFTDYY (SEQ ID NO: 7)	INPNSGDT (SEQ ID NO: 8)	ARNSGSYS FGY (SEQ ID NO: 9)	QGISSW (SEQ ID NO: 10)	GAS	QQAYSFPF T (SEQ ID NO: 12)
2M24 (Chothia)	GYTFTDY (SEQ ID NO: 13)	NPNSGD (SEQ ID NO: 14)	NSGSYSFG Y (SEQ ID NO: 15)	RASQGISSW LA (SEQ ID NO: 4)	GASSLQS (SEQ ID NO: 5)	QQAYSFPF T (SEQ ID NO: 6)
2M24.119 /124 (Kabat)	DYYM (SEQ ID NO: 16)	WINPNEGDTNY AQKFEG (SEQ ID NO: 17)	NTGAYSFGY (SEQ ID NO: 18)	RASQGISSW LA (SEQ ID NO: 4)	GASDLQS (SEQ ID NO: 19)	QQAYGFP FT (SEQ ID NO: 20)
2M24.119/12 4 (IMGT)	GYTFTDYY (SEQ ID NO: 7)	INPNEGDT (SEQ ID NO: 21)	ARNTGAYSF GY (SEQ ID NO: 22)	QGISSW (SEQ ID NO: 10)	GAS	QQAYGFP FT (SEQ ID NO: 20)
2M24.119/12 4 (Chothia)	GYTFTDY (SEQ ID NO: 13)	NPNEGD (SEQ ID NO: 23)	NTGAYSFGY (SEQ ID NO: 18)	RASQGISSW LA (SEQ ID NO: 4)	GASDLQS (SEQ ID NO: 19)	QQAYGFP FT (SEQ ID NO: 20)

Tabla 6. Secuencias de dominio variable de anticuerpos anti-Dectina-1

Nombre	VH	VL
2M24	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCSSG YTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWIN PNSGDTNYAQKFQGRITMTRDTSISTAY LELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGY WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 24)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLL IFGASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTVSSLQPEDFATYYCQQAYSF PFTFGPGTKVDIE (SEQ ID NO: 25)
2M24.119	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNEGDTNYAQKFEGRITMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFG YWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:26)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLL IYGASDLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQAYGF PFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:27)
2M24.124	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG YTFTDYYMHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNEGDTNYAQKFEGRITMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFG YWGCGTLVTVSS (SEQ ID NO:30)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR ASQGISSWLAWYQQKPGKCPKLL IYGASDLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQAYGF PFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:31)

[0083] En algunas modalidades, el brazo o dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que comprende el primer dominio VH y el primer dominio VL. En algunas modalidades, el scFv comprende un enlazador entre el primer dominio VH y el primer dominio VL. Los enlazadores para crear proteínas de fusión de anticuerpos son conocidos en la técnica. En algunas modalidades, el enlazador comprende, consiste en o consiste esencialmente en residuos de glicina y/o serina. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 15-20 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador comprende la secuencia GGGSGGGSGGGS (SEQ ID NO:92). En algunas modalidades, el enlazador comprende una o más repeticiones de la secuencia GGGGS (SEQ ID NO:93). En algunas modalidades, el enlazador comprende la secuencia GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:94) o GGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:95). Se describen secuencias enlazadoras adicionales en Chen, X. *et al.* (2013) *Adv. Drug Deliv. Rev.* 65:1357-1369. En algunas modalidades (p. ej., en un scFv de la presente

divulgación), el scFv comprende un tipo de enlazador entre los dominios VH y VL, y otro tipo de enlazador que conecta el dominio VL con el resto del brazo, p. ej., a una región Fc. Por ejemplo, en algunas modalidades, el enlazador entre los dominios VH y VL comprende residuos de glicina y/o serina, tales como GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:92), GGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:94), GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:95), o una o más repeticiones de la secuencia GGGGS (SEQ ID NO:96); y/o el enlazador que conecta el dominio VL con la región Fc comprende EPKRSDKTHTCPPC (SEQ ID NO:97) o SATHTCPPC (SEQ ID NO:98). En algunas modalidades, el enlazador entre los dominios VH y VL comprende residuos de glicina y/o serina y tiene una longitud de 15-20 aminoácidos.

10 **[0084]** En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos de QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSGGG
GSGG
GGSGGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKCPKLLI
15 YGAS DLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAYGFPFTFGPGTKVDIKEPK
(SEQ ID NO:34).

[0085] En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que comprende el dominio VH y el dominio VL de un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 de la presente divulgación y una región Fc de anticuerpo. En algunas
20 modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende la secuencia de aminoácidos de QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSGGG
GSGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKC
PKLLIYGASDLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQAYGFPFTFGPGTKVDIK
25 EPKRSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:35) o
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
30 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSGGG
GSGGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKC

PKLLIYGASDLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK
 EPKRSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 5 GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:36). Por
 ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula
 de unión multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la
 que algunas especies comprenden una fusión scFv-Fc que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:35, mientras que otras especies comprenden una fusión scFv-
 10 Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36. En algunas modalidades,
 el brazo anti-Dectina-1 comprende la secuencia de aminoácidos de
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSGGG
 GSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKC
 15 PKLLIYGASDLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK
 EPKRSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:103) o
 20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
 YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSGGG
 GSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWLAWYQQKPGKC
 PKLLIYGASDLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIK
 EPKRSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
 25 YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK
 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:104). Por
 ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula
 de unión multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la
 30 que algunas especies comprenden una fusión scFv-Fc que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:103, mientras que otras especies comprenden una fusión scFv-

Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:104.

[0086] En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende el dominio VH de un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 de la presente divulgación y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende el dominio VL de un dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 de la presente divulgación. En algunas modalidades, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende además una región Fc. En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSSGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY
AQKFQGRITMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGYWGGTLTVSSASTK
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
15 LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:87) o

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSSGYTFTDYYIHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY
AQKFQGRITMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGYWGGTLTVSSASTK
20 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
SVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVK
GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
25 LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:88) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que

comprende la secuencia de aminoácidos de
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAHYQQKPGKAPKLLIFGASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLVSSLQPEDFATYYCQAYSFPTFGPGTKVDIERTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
30 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:89). Por ejemplo, en algunas
modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión

multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, mientras que

5 otras especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:88 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89. En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

15 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:32) o

20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE

25 ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:91) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAHYQQKPGKCPKLLIYGASDLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEK

30 HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGES (SEQ ID NO:33). Por ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión

multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, mientras que

5 otras especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:91 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33. En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

15 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:28) o

20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE

25 ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:90) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAHYQQKPGKAPKLLIYGASDLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEK

30 HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:29). Por ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión

multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, mientras que

5 otras especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:90 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29. En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSSGYTFTDYYIHWRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY
 AQKFQGRITMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGYWGGTLTVSSASTK
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
 SVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
 15 LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVK
 GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
 LHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:111) o

20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKSSGYTFTDYYIHWRQAPGQGLEWMGWINPNSGDTNY
 AQKFQGRITMTRDTSISTAYLELSRLRSDDTAVFYCARNSGSYSFGYWGGTLTVSSASTK
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS
 SVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK
 PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
 LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVK
 GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
 25 LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 112) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAHYQQKPGKAPKLLIFGASSLQSGVPSRF
 SGSGSGTDFTLVSSLQPEDFATYYCQAYSFPTFGPGTKVDIERTVAAPSVFIFPPSDEQL
 KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
 30 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:89). Por ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión

multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 111 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, mientras otras

5 especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 112 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89. En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos

10 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

15 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 101) o

20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGCGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE

25 ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:102) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAHYQQKPGKCPKLLIYGASDLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNFPYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEK

30 HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGES (SEQ ID NO:33). Por ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión

multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, mientras que

5 otras especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33. En algunas modalidades, el brazo anti-Dectina-1 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

10 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

15 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:99) o

20 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNEGDTN
YAQKFEGRITMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARNTGAYSFGYWGGTGLTVTVSSAST
KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL
SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAV
KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE

25 ALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:100) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISWLAHYQQKPGKAPKLLIYGASDLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAYGFPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLK
SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEK

30 HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:29). Por ejemplo, en algunas modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión

multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, mientras que

5 otras especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:100 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29.

[0087] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o proteína de unión multiespecífica se unen a Dectina-1 humana. En algunas

10 modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica se unen a Dectina-1 humana expresada en la superficie de un macrófago, monocito, célula dendrítica o granulocito. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica se unen a la isoforma A de la Dectina-1 humana y/o isoforma B de la Dectina-1

15 humana. En algunas modalidades, la isoforma A de la Dectina-1 humana comprende la secuencia de aminoácidos

MEYHPDLENLDEDGYTQLHFDSQSNTRIAVVSEKGSCAASPPWRLIAVILGILCLVILVIAVVLG
TMAIWRSNSGSNTLENGYFLSRNKENHSQPTQSSLEDSTPTKAVKTTGVLSSPCPPNWIIYE
KSCYLFSMSLNSWDGSKRQCWQLGSNLLKIDSSNELGFIVKQVSSQPDNSFWIGLSRPQTEV
20 PWLWEDGSTFSSNLFQIRTTATQENPSPNCVWIIHVSVIYDQLCSVPSYSICEKKFSM (SEQ ID NO:84). En algunas modalidades, la isoforma B de la Dectina-1 humana comprende la secuencia de aminoácidos

MEYHPDLENLDEDGYTQLHFDSQSNTRIAVVSEKGSCAASPPWRLIAVILGILCLVILVIAVVLG
TMGVLSSPCPPNWIIYEKSCYLFSMSLNSWDGSKRQCWQLGSNLLKIDSSNELGFIVKQVSS
25 QPDNSFWIGLSRPQTEVPWLWEDGSTFSSNLFQIRTTATQENPSPNCVWIIHVSVIYDQLCSV
PSYSICEKKFSM (SEQ ID NO:85).

[0088] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o la proteína de unión multiespecífica se unen a la Dectina-1 humana expresada en la superficie de una célula con una EC50 de menos de 5 nM, menos de 2 nM, menos de 1 nM

30 o menos de 0,5 nM. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1, el brazo anti-Dectina-1 o proteína de unión multiespecífica es capaz de unirse a Dectina-1 humana

y Dectina-1 de mono, p. ej., Dectina-1 de macaco cangrejero.

Dominios de unión al antígeno anti-Trop-2

[0089] Se contemplan varios dominios de unión al antígeno anti-Trop-2 para su uso en las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2 es un dominio de unión al antígeno humano. En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2 es un dominio de unión al antígeno humanizado.

[0090] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos SSNWWWS (SEQ ID NO: 37); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos EIYHDGSTDYFPSLKS (SEQ ID NO: 38); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos DNWGFDY (SEQ ID NO: 39); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos RASQSVSSSYL (SEQ ID NO: 40); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GASSRAT (SEQ ID NO: 41) y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQYGSSHRT (SEQ ID NO: 42).

[0091] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GGSISSSNW (SEQ ID NO: 43); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos IYHDGST (SEQ ID NO: 44); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos ARDNWGFDY (SEQ ID NO: 45); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos QSVSSSY (SEQ ID NO: 46); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GAS y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos QQYGSSHRT (SEQ ID NO: 42).

[0092] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GGSISSSN (SEQ ID NO: 48); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos YHDGS (SEQ ID NO: 49); y una CDR-H3 que

comprende la secuencia de aminoácidos NWGFD (SEQ ID NO: 50); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos SQSVSSSY (SEQ ID NO: 51); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos GAS y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos YGSSHR (SEQ ID NO: 52).

5 **[0093]** En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos SYGMN (SEQ ID NO: 53); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos WINTNTGNPTYAQGFTG (SEQ ID NO: 54); y una
10 CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos GYNWNDGDFDY (SEQ ID NO: 55); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos RASQGIRNDLG (SEQ ID NO: 56); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos AASSLQS (SEQ ID NO: 57) y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos LQNYNYPLT (SEQ ID NO: 58).

15 **[0094]** En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSYG (SEQ ID NO: 59); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos INTNTGNP (SEQ ID NO: 60); y una CDR-H3
20 que comprende la secuencia de aminoácidos ARGYNWNDGDFDY (SEQ ID NO: 61); y en donde el dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos QGIRND (SEQ ID NO: 62); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos AAS y una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos LQNYNYPLT (SEQ ID NO: 58).

[0095] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende: una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos GYTFTSY (SEQ ID NO: 64); una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos NTNTGN (SEQ ID NO: 65); y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos YNWNDGDFD (SEQ ID NO: 66); y en donde el
25 dominio VL comprende: una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos SQGIRND (SEQ ID NO: 67); una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos AAS y una CDR-
30

L3 que comprende la secuencia de aminoácidos NYNYPL (SEQ ID NO: 68).

[0096] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende la

secuencia de aminoácidos
 QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY
 TDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWYFDVWGQGSLVTVSS

(SEQ ID NO:69) y/o en donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIABAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPDRFS

GSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:70). En algunas modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos

QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY
 TDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWYFDVWGQGSLVTVSS

(SEQ ID NO:69) y el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIABAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPDRFS

GSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:70).

[0097] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende la

secuencia de aminoácidos
 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIIYHDGSTDYF
 PSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID

NO:74) y/o en donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLISGASSRATGIPDRF

SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSHRTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:75). En algunas modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos

QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIIYHDGSTDYF
 PSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWGFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID

NO:74) y el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
 DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLISGASSRATGIPDRF

SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSHRTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:75).

[0098] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión multiespecífica comprenden un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL); en donde el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos

5 QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY
AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYWGQGTTLTVSS
(SEQ ID NO:79) y/o en donde el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
AIQMTQSPSSLSPSVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIFAASSLQSGVPSRFS
GSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCLQNYNYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:80). En algunas
10 modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos
QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY
AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYWGQGTTLTVSS
(SEQ ID NO:79) y el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos
AIQMTQSPSSLSPSVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIFAASSLQSGVPSRFS
15 GSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCLQNYNYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:80).

[0099] En algunas modalidades, un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, un brazo anti-Trop-2 o una proteína de unión multiespecífica de la divulgación comprenden un dominio VH que comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VH enumerado en la Tabla 7 y/o un dominio VL que comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VL enumerado en la Tabla 7. En algunas
20 modalidades, un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, un brazo anti-Trop-2 o una proteína de unión multiespecífica de la divulgación comprenden un dominio VH que comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VH enumerado en la Tabla 8 y/o un dominio VL que comprende 1, 2 o 3 CDR de un único dominio VL enumerado en la Tabla 8. En algunas modalidades, un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, un brazo anti-Trop-2 o una proteína de unión multiespecífica
25 de la divulgación comprenden un dominio VH que comprende un dominio VH y/o VL enumerado en la Tabla 8. En algunas modalidades, cualquier conjunto de 3 VH CDR que se muestran en la Tabla 7 puede combinarse con cualquier conjunto de 3 VL CDR que se muestra en la Tabla 7 en un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, brazo anti-Trop-2 o proteína de unión multiespecífica de la presente divulgación. En algunas modalidades, cualquier conjunto de 3
30 CDR de un dominio VH mostrado en la Tabla 8 puede combinarse con cualquier conjunto de 3 CDR de un dominio VL mostrado en la Tabla 8 en un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2,

brazo anti-Trop-2 o proteína de unión multiespecífica de la presente divulgación. En algunas modalidades, cualquier dominio VH mostrado en la Tabla 8 puede combinarse con cualquier dominio VL mostrado en la Tabla 8 en un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, brazo anti-Trop-2 o proteína de unión multiespecífica de la presente divulgación.

5 **Tabla 7.** Secuencias de CDR de anticuerpos anti-Trop-2

Nombre	CDR-H1	CDR-H2	CDR-H3	CDR-L1	CDR-L2	CDR-L3
DR02B.65 Clon B (Kabat)	SSNWWS (SEQ ID NO:37)	EIYHDGSTDYF PSL KS (SEQ ID NO:38)	DNWGFDY (SEQ ID NO:39)	RASQSVSS SYL (SEQ ID NO:40)	GASSRAT (SEQ ID NO:41)	QQYGSSH RT (SEQ ID NO:42)
DR02B.65 Clon B (IMGT)	GGSISSSN W (SEQ ID NO:43)	IYHDGST (SEQ ID NO:44)	ARDNWGFD Y (SEQ ID NO:45)	QSVSSSY (SEQ ID NO:46)	GAS	QQYGSSH RT (SEQ ID NO:42)
DR02B.65 Clon B (Chothia)	GGSISSSN (SEQ ID NO:48)	YHDGS (SEQ ID NO:49)	NWGFD (SEQ ID NO:50)	SQSVSSSY (SEQ ID NO:51)	GAS	YGSSHR (SEQ ID NO:52)
DR02B.77 Clon C (Kabat)	SYGMN (SEQ ID NO:53)	WINTNTGNPTY AQGFTG (SEQ ID NO:54)	GYNWNDGD FDY (SEQ ID NO:55)	RASQGIRND LG (SEQ ID NO:56)	AASSLQS (SEQ ID NO:57)	LQNYNYPL T (SEQ ID NO:58)
DR02B.77 Clon C (IMGT)	GYTFTSYG (SEQ ID NO:59)	INTNTGNP (SEQ ID NO:60)	ARGYNWND GDFDY (SEQ ID NO:61)	QGIRND (SEQ ID NO:62)	AAS	LQNYNYPL T (SEQ ID NO:58)
DR02B.77 Clon C (Chothia)	GYTFTSY (SEQ ID NO:64)	NTNTGN (SEQ ID NO:65)	YNWNDGDF D (SEQ ID NO:66)	SQGIRND (SEQ ID NO:67)	AAS	NYNYPL (SEQ ID NO:68)

Tabla 8. Secuencias de dominio variable de anticuerpo anti-Trop-2

Nombre	VH	VL
Clon A	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYT FTNYGMNWKQAPGQGLKWMGWINTYT GEPTYTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQIS SLKADDTAVYFCARGGFGSSYWYFDVW GGGSLVTVSS (SEQ ID NO: 69)	DIQLTQSPSSLASVGDVRSITCKA SQDVSIATAWYQQKPGKAPKLLIYS ASYRYTGVPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLPEDFAVYYCQQHYITPLTFG AGTKVEIK (SEQ ID NO: 70)
Clon B	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSI	DIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSCRA

	SSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIYHDG STDYFPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARDNWGFDYWGGTTLVT VSS (SEQ ID NO:74)	SQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI SGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSHRT FGQGTKVEIK (SEQ ID NO:75)
Clon C	QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYT FTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTN TGNPTYAQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQI SSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYW GGGTLTVSS (SEQ ID NO:79)	AIQMTQSPSSLSPSVGDRVITICR ASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLI FAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISNLQPEDFATYYCLQNYNYPLT FGGGTKVEIK (SEQ ID NO:80)

[0100] En algunas modalidades, el brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende el dominio VH de un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2 de la presente divulgación y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que

5 comprende el dominio VL de un dominio de unión al antígeno anti-Trop-2 de la presente divulgación. En algunas modalidades, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende además una región Fc. En algunas modalidades, el brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos

10 QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY
TDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWFVDVWGQGSLTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCA
15 VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:71) o

QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY
TDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWFVDVWGQGSLTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
20 SLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCA

VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
 EALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:72) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo
 que comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIABAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPDRFS
 5 GSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
 GTASVVCLLNFPYAPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH
 KVIYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:73). Por ejemplo, en algunas modalidades,
 una composición que comprende un brazo o una molécula de unión multiespecífica de la
 presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies
 10 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:71 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, mientras que otras especies
 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:72 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el
 brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende
 la secuencia de aminoácidos de
 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIIYHDGSTDYF
 PSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS
 20 VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
 DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
 25 HYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:76) o
 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIIYHDGSTDYF
 PSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS
 VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
 30 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
 DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFY

PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:77) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
comprende la secuencia de aminoácidos de
DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLISGASSRATGIPDRF
5 SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSHRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:78). Por ejemplo, en algunas
modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión
multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que
10 algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende
la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 y un polipéptido de cadena ligera de
anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, mientras que
otras especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la
secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo
15 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el
brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende
la secuencia de aminoácidos de
QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY
AQGFTGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYWGQGTLVTVSSA
20 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCA
VKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
25 EALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:81) o
QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY
AQGFTGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
30 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCA

VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:82) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo
que comprende la secuencia de aminoácidos de
AIQMTQSPSSSPSVGDRVITICRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIFAASSLQSGVPSRFS
5 GSGSGTDFTLTISNLQPEDFATYYCLQNYNYPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
GTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH
KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:83). Por ejemplo, en algunas modalidades,
una composición que comprende un brazo o una molécula de unión multiespecífica de la
presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies
10 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
aminoácidos de la SEQ ID NO:81 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83, mientras que otras especies
comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
aminoácidos de la SEQ ID NO:82 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el
brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende
la secuencia de aminoácidos
QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY
TDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWFYFDVWGQGSLVTVSSA
20 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
25 HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:105) o
QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY
TDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCARGGFGSSYWFYFDVWGQGSLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
30 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWC

LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
 HEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:106) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo
 que comprende la secuencia de aminoácidos
 DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIATAWYQQKPGKAPKLLIYSASYRYTGVPDRFS
 5 GSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQHYITPLTFGAGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
 GTASVVCLLNNFYPRKAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH
 KVVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:73). Por ejemplo, en algunas modalidades,
 una composición que comprende un brazo o una molécula de unión multiespecífica de la
 presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies
 10 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO: 105 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73, mientras otras especies
 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO: 106 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el
 brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende
 la secuencia de aminoácidos de
 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIIYHDGSTDYF
 PSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS
 20 VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
 DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFY
 PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
 25 HYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:107) o
 QVQLQESGPGLVKPSGTLSTCAVSGGSISSSNWWSWVRQPPGKGLEWIGEIIYHDGSTDYF
 PSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDNWGFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS
 VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV
 TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
 30 TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
 DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFY

PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:108) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
comprende la secuencia de aminoácidos de
DIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLISGASSRATGIPDRF
5 SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSHRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:78). Por ejemplo, en algunas
modalidades, una composición que comprende un brazo o una molécula de unión
multiespecífica de la presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que
10 algunas especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende
la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107 y un polipéptido de cadena ligera de
anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, mientras otras
especies comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la
secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108 y un polipéptido de cadena ligera de
15 anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas
modalidades, el brazo anti-Trop-2 comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo
que comprende la secuencia de aminoácidos de
QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY
AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYWGQGTLVTVSSA
20 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM
25 HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:109) o
QVQLVQSGSELKKPGASVKLSCKASGYTFTSYGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTNTGNPTY
AQGFTGRFVFSLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARGYNWNDGDFDYWGQGTLVTVSSA
STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
30 PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWC

LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVM
 HEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:110) y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo
 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 AIQMTQSPSSLSPTSGDRTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIFAASSLQSGVPSRFS
 5 GSGSGTDFLTISNLPEDFATYYCLQNYNYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKS
 GTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH
 KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:83). Por ejemplo, en algunas modalidades,
 una composición que comprende un brazo o una molécula de unión multiespecífica de la
 presente divulgación comprende una mezcla de especies en la que algunas especies
 10 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:109 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83, mientras que otras especies
 comprenden un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo que comprende la secuencia de
 aminoácidos de la SEQ ID NO:110 y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo que
 15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0101] En algunas modalidades, el dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-
 2 o proteína de unión multiespecífica se unen a Trop-2 humana. En algunas modalidades, el
 dominio de unión al antígeno anti-Trop-2, el brazo anti-Trop-2 o la proteína de unión
 multiespecífica se unen a Trop-2 humana expresada en la superficie de un célula, p. ej. una
 20 célula cancerosa o tumoral. En algunas modalidades, la Trop-2 humana comprende la
 secuencia de aminoácidos
 MARGPGLAPPPLRLPLLLLVLAAVTGHTAAQDNCTCPTNKMTVCSPDGPGGRCQCRA LGSG
 MAVDCSTLTSKCLLLKARMSAPKNARTLVRPSEHALVDNDGLYDPDCDPEGRFKARQCNQT
 SVCWCVNSVGVRRTDKGDLRLCDELVRTHHILIDLRHRPTAGAFNHSDLD AELRRLFRERY
 25 RLHPKFVAAVHYEQPTIQIELRQNTSQKAAGDVDIGDAAYYFERDIKGESLFQGRGGLDLRVR
 GEPLQVERTLIYYLDEIPPKFSMKRLTAGLIAVIVVVVVALVAGMAVLVITNRRKSGKYKKVEIKE
 LGELRKEPSL (SEQ ID NO:86).

Formatos de moléculas de unión multiespecíficas y otras características

[0102] En algunas modalidades, un brazo de unión al antígeno (p. ej., un brazo anti-Dectina-1
 30 o anti-Trop-2 de la presente divulgación) o una molécula de unión multiespecífica de la presente
 divulgación comprende una región Fc. Un anticuerpo puede ser de cualquier clase o subclase,

lo cual incluye IgG y subclases de esta (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgE, IgA e IgD. Una región Fc de inmunoglobulina de la molécula que causa la fagocitosis dirigida puede tener un papel importante en el proceso al activar los receptores para el Fc e inducir una fagocitosis adicional.

[0103] En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana o IgG4 humana. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones S239D e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones S239D, A330L e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones G236A, S239D, A330L e I332E, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la región Fc es una región Fc de IgG4 humana que comprende una sustitución S228P, de acuerdo con la numeración de la UE.

[0104] En algunas modalidades, un brazo de unión al antígeno (p. ej., un brazo anti-Dectina-1 o anti-Trop-2 de la presente divulgación) o una molécula de unión multiespecífica de la presente divulgación comprende una región Fc en donde una estructura de carbohidrato unida a la región Fc tiene fucosa reducida o carece de fucosa, p. ej., al menos una o dos de las cadenas pesadas de la molécula de unión multiespecífica no están fucosiladas o comprenden una fucosilación reducida. En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona una composición que comprende una molécula de unión multiespecífica de la presente divulgación que comprende una o dos regiones Fc en donde una estructura de carbohidrato unida a la región Fc tiene una fucosa reducida o carece de fucosa, p. ej., al menos una o dos de las cadenas pesadas de la molécula de unión multiespecífica no están fucosiladas o comprenden una fucosilación reducida. En algunas modalidades, menos del 50 % de las cadenas de carbohidrato enlazadas a N-glucósido contienen un residuo de fucosa. En algunas modalidades, sustancialmente ninguna de las cadenas de carbohidrato enlazadas a N-glucósido contienen un residuo de fucosa. En algunas modalidades, una molécula de unión multiespecífica con fucosa reducida o sin fucosa tiene una función de ADCC mejorada.

[0105] En algunas modalidades, las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación comprenden además una o más mutaciones en solamente uno de los brazos del anticuerpo para reducir la afinidad de unión a la Proteína A. Ver, p. ej., Ollier, R. *et al.* (2019) *MAbs* 11:1464-1478 y AU2018204314. En algunas modalidades, la molécula de

unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) comprende dos cadenas ligeras de anticuerpo y dos cadenas pesadas de anticuerpo, en donde solo una de las cadenas pesadas de anticuerpo comprende las sustituciones de aminoácidos H435R y Y436F, de acuerdo con la numeración de la UE.

- 5 **[0106]** En algunas modalidades, las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación comprenden además una o más mutaciones para reducir la función efectora, p. ej., para reducir o eliminar la unión de la región Fc a un receptor para el Fc. En algunas modalidades, la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) comprende dos regiones Fc de anticuerpo, en donde las regiones Fc de anticuerpo comprenden una sustitución
- 10 de aminoácidos en una o más de las posiciones 234, 235 y 237, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) comprende dos regiones Fc de anticuerpo, en donde las regiones Fc de anticuerpo comprenden las sustituciones L234A, L235E y G237A, de acuerdo con la numeración de la UE.

- [0107]** En otras modalidades, una molécula de unión multiespecífica de la presente divulgación
- 15 (p. ej., una molécula de unión multiespecífica de IgG1) o composición que comprende una molécula de unión multiespecífica de la presente divulgación (p. ej., una molécula de unión multiespecífica de IgG1) comprende la glucosilación de tipo salvaje de una o dos regiones Fc. En algunas modalidades, en el presente documento se proporcionan moléculas de unión multiespecíficas fucosiladas de la presente divulgación (p. ej., una molécula de unión
- 20 multiespecífica de IgG1) o composiciones que comprenden una molécula de unión multiespecífica fucosilada de la presente divulgación (p. ej., una molécula de unión multiespecífica de IgG1).

- [0108]** La fucosilación o anticuerpos fucosilados puede referirse a la presencia de residuos de fucosa dentro de los oligosacáridos unidos a la cadena principal peptídica de un anticuerpo.
- 25 Específicamente, un anticuerpo fucosilado comprende fucosa enlazada a α (1,6) en el residuo más interno de N-acetilglucosamina (GlcNAc) en uno o ambos oligosacáridos enlazados a N unidos a la región Fc del anticuerpo, p. ej., en la posición Asn 297 de la región Fc de IgG1 humana (numeración de la UE de los residuos de la región Fc). Asn297 también puede ubicarse alrededor de +3 aminoácidos antes o después de la posición 297, es decir, entre las posiciones
- 30 294 y 300, debido a variaciones de secuencia menores en las inmunoglobulinas. Los anticuerpos no fucosilados o deficientes en fucosa tienen fucosa reducida en relación con la

cantidad de fucosa en el mismo anticuerpo producido en una línea celular. La fucosilación de anticuerpos puede medirse, por ejemplo, en una composición de anticuerpos tratada con N-glucosidasa F evaluada mediante espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo y desorción-ionización láser asistida por matriz (MALDI TOF MS).

5 **[0109]** En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones que reducen o eliminan la fucosilación, p. ej., una sustitución en Asn 297 de la región Fc de IgG1 humana (numeración de la UE de los residuos de la región Fc). Opcionalmente, la región Fc comprende además una o más sustituciones de aminoácidos, que mejoran adicionalmente la ADCC, por ejemplo, sustituciones en las posiciones 298, 333 y/o 334 de la región Fc (numeración de la UE
10 de residuos). Algunos ejemplos de publicaciones relacionadas con los anticuerpos “desfucosilados” o “deficientes en fucosa” incluyen: US 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; US 2003/0115614; US 2002/0164328; US 2004/0093621; US 2004/0132140; US 2004/0110704; US 2004/0110282; US 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778; WO2005/053742; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-
15 1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004).

[0110] Se conocen en la técnica varias tecnologías para ensamblar dos brazos de una molécula de unión multiespecífica de la presente divulgación y se contemplan para su uso en el presente documento.

[0111] En algunas modalidades, la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la
20 presente divulgación comprende un primer brazo de anticuerpo que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende un primer dominio VH en asociación con una cadena ligera de anticuerpo que comprende un primer dominio VL, y una primera región Fc conectada con el primer dominio VH, en donde el primer dominio VH y VL forman un primer dominio de unión al antígeno que se une a la Dectina-1 humana, y un segundo brazo de anticuerpo que
25 comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende un segundo dominio VH en asociación con una cadena ligera de anticuerpo que comprende un segundo dominio VL, y una segunda región Fc conectada con el segundo dominio VH, en donde el segundo dominio VH y VL forman un segundo dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana. Es decir, el primer y segundo brazo de anticuerpo pueden tener el formato de anticuerpo convencional
30 (véase, por ejemplo, las **Figuras 1A y 1B**).

[0112] Un enfoque bien establecido para hacer anticuerpos biespecíficos es el enfoque de

“botones en ocales” o “protuberancia en cavidad”. Véase, p. ej., la patente estadounidense n.º 5,731,168. Dos polipéptidos de inmunoglobulina (p. ej., polipéptidos de cadena pesada) comprenden, cada uno, una interfaz; una interfaz de un polipéptido de inmunoglobulina interactúa con una interfaz correspondiente o afín en el otro polipéptido de inmunoglobulina, lo que permite que los dos polipéptidos de inmunoglobulina se asocien. En algunas modalidades, las interfaces pueden diseñarse de tal manera que un “botón” o una “protuberancia” ubicada en la interfaz de un polipéptido de inmunoglobulina corresponda con un “ojal” o una “cavidad” afín ubicada en la interfaz del otro polipéptido de inmunoglobulina. En algunas modalidades, se puede construir un botón al reemplazar una cadena lateral de aminoácidos pequeña con una cadena lateral más grande. En algunas modalidades, se puede construir un ojal al reemplazar una cadena lateral de aminoácidos grande con una cadena lateral más pequeña. Pueden existir botones u ocales en la interfaz original, o pueden introducirse sintéticamente. Los polinucleótidos que codifican polipéptidos de inmunoglobulina modificados con una o más mutaciones formadoras de botones u ocales correspondientes pueden expresarse y purificarse utilizando técnicas recombinantes convencionales y sistemas celulares conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, las pat. de EE. UU. n.º 5,731,168; 5,807,706; 5,821,333; 7,642,228; 7,695,936; 8,216,805; 8,679,785; 8,844,834; pub. de EE. UU. n.º 2013/0089553; Spiess et al., *Nature Biotechnology* 31: 753-758, 2013; y Ridgway y Carter (1996) *Protein Eng.* 9:617-621. Los polipéptidos de inmunoglobulina modificados pueden producirse utilizando células hospedadoras procariotas, tales como *E. coli*, o células hospedadoras eucariotas, tales como células de mamíferos (p. ej., células CHO) o células de levadura. Los polipéptidos de inmunoglobulina portadores de botones y ocales correspondientes pueden expresarse en células hospedadoras en cocultivo y purificarse juntos como un heteromultímero, o pueden expresarse en cultivos individuales, purificarse por separado y ensamblarse *in vitro*. A continuación se proporcionarán ejemplos de mutaciones de botones y ocales afines (numeración según el índice de la UE). La numeración de la UE tal como se utiliza en el presente documento es conocida en la técnica; véanse, por ejemplo, los recursos de IMGT en www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html y www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGKCnber.html.

Región Fc 1	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S	T394W	T394S	T366W
--------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

					L368A Y407V	Y407T	Y407A	T394S
Región Fc 2	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A

[0113] En algunas modalidades, se proporciona en el presente documento una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) que comprende un primer brazo de anticuerpo que comprende una primera cadena pesada de anticuerpo que comprende un primer dominio VH en asociación con una primera cadena ligera de anticuerpo que comprende un primer dominio VL y una primera región Fc conectada con el primer dominio VH, en donde el primer dominio VH y VL forman un dominio de unión al antígeno que se une a la Dectina-1 humana, y un segundo brazo de anticuerpo que comprende una segunda cadena pesada de anticuerpo que comprende un segundo dominio VH en asociación con una segunda cadena ligera de anticuerpo que comprende un segundo dominio VL y una segunda región Fc conectada con el segundo dominio VH, en donde el segundo dominio VH y VL forman un dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana. En algunas modalidades, la primera región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la segunda región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines, o la segunda región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la primera región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines. Los conjuntos no taxativos de mutaciones formadoras de botones y ojales incluyen T366W para la formación de botones y sustituciones T366S, L368A e Y407V para la formación de ojales, según la numeración de la UE.

[0114] En algunas modalidades, las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) de la presente divulgación comprenden dos cadenas pesadas de anticuerpo y dos cadenas ligeras de anticuerpo, en donde el dominio VH de la primera cadena pesada de anticuerpo forma un dominio de unión al antígeno con el dominio VL de la primera cadena ligera de anticuerpo, en donde el dominio VH de la segunda cadena pesada de anticuerpo forma un dominio de unión al antígeno con el dominio VL de la segunda cadena ligera de anticuerpo, en donde la primera cadena pesada de anticuerpo comprende las sustituciones F126C, C220V y T366W, en donde la primera cadena ligera de anticuerpo comprende las sustituciones S121C y C214V, y en donde la segunda cadena pesada de anticuerpo comprende sustituciones T366S, L368A, Y407V,

H435R e Y436F, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la primera y segunda cadena pesada del anticuerpo comprenden además sustituciones L234A, L235E y G237A, de acuerdo con la numeración de la UE. En algunas modalidades, la primera y segunda cadena pesada del anticuerpo comprenden dominios Fc de IgG1 humana.

- 5 **[0115]** En algunas modalidades, los anticuerpos multiespecíficos (p. ej., biespecíficos) comprenden además una o más mutaciones en solo uno de los brazos del anticuerpo para mejorar el emparejamiento de cadena pesada/cadena ligera. Por ejemplo, se pueden utilizar sustituciones de aminoácidos para reemplazar un puente disulfuro nativo en la interfaz CH1-CL de un brazo de anticuerpo con un puente disulfuro modificado genéticamente (véase, p. ej., la
- 10 **Figura 1B**). Véase, p. ej., Mazor, Y. *et al.* (2015) *MAbs* 7:377-389 y EP3452089A2. En algunas modalidades, el anticuerpo multiespecífico o biespecífico comprende dos cadenas ligeras de anticuerpo y dos cadenas pesadas de anticuerpo, en donde solo una de las cadenas pesadas de anticuerpo comprende las sustituciones de aminoácidos F126C y C220V, y solo la cadena ligera correspondiente o afín comprende las sustituciones de aminoácidos S121C y C214V, de
- 15 acuerdo con la numeración de la UE.

- [0116]** En algunas modalidades, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo de un brazo de la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la presente divulgación tiene una sustitución de aminoácido C→S en la posición 5, de acuerdo con la numeración de bisagra de IMGT; la posición 220, de acuerdo con el índice de la UE; o la posición 233, de acuerdo con la
- 20 numeración de Kabat. Las descripciones de los esquemas de numeración de bisagra de IMGT, índice de la UE y Kabat son conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html)y, por lo tanto, el experto puede determinar la ubicación precisa de este residuo utilizando conocimientos comunes en la técnica. En algunas modalidades, el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo del brazo
- 25 correspondiente de la molécula de unión multiespecífica (p. ej. biespecífica) tiene una C→S en el residuo terminal del dominio constante de cadena ligera (p. ej., dominio CK). En algunas modalidades, el dominio VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30; el dominio VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:31; la cadena pesada de anticuerpo del brazo de anticuerpo tiene una sustitución de aminoácido C→S en la posición
- 30 5, de acuerdo con la numeración de bisagra de IMGT; la posición 220, de acuerdo con el índice de la UE; o la posición 233, de acuerdo con la numeración de Kabat; y la cadena ligera de

anticuerpo del brazo de anticuerpo tiene una C→S en el residuo terminal del dominio constante de cadena ligera (p. ej., el dominio CK). En algunas modalidades, el dominio VH del brazo anti-Dectina-1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, y el dominio VL del brazo anti-Dectina-1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:31. En algunas modalidades, los dominios VH y VL del brazo anti-Dectina-1 son parte de un scFv que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:34.

[0117] En algunas modalidades, la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la presente divulgación comprende un primer brazo de anticuerpo que comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que comprende los dominios VH y VL de la presente divulgación que se unen a la Dectina-1 humana y una primera región Fc, y un segundo brazo de anticuerpo que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende un dominio VH en asociación con una cadena ligera de anticuerpo que comprende un dominio VL y una segunda región Fc conectada al dominio VH, en donde los dominios VH y VL del segundo brazo de anticuerpo forman un dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2. Es decir, el primer brazo de anticuerpo puede estar en formato scFV (p. ej., fusión scFv-Fc) y el segundo brazo de anticuerpo puede estar en formato de anticuerpo convencional (véase, p. ej., la **Figura 1C**).

[0118] En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) que comprende un primer brazo de anticuerpo que comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) que comprende los dominios VH y VL de la presente divulgación que se unen a la Dectina-1 humana y una primera región Fc, y un segundo brazo de anticuerpo que comprende una cadena pesada de anticuerpo que comprende un dominio VH en asociación con una cadena ligera de anticuerpo que comprende un dominio VL y una segunda región Fc conectada al dominio VH, en donde los dominios VH y VL del segundo brazo de anticuerpo forman un dominio de unión al antígeno que se une a Trop-2 humana. En algunas modalidades, la primera región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la segunda región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines, o la segunda región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de botones, y la primera región Fc comprende una o más mutaciones formadoras de ojales afines. En algunas modalidades, el scFv comprende un primer enlazador de la presente divulgación entre los dominios VH y VL y un segundo enlazador de la presente divulgación entre el dominio VL y la primera región Fc. Los conjuntos no taxativos de mutaciones formadoras de botones y

ojales incluyen T366W para la formación de botones y sustituciones T366S, L368A e Y407V para la formación de ojales, según la numeración de la UE.

[0119] De acuerdo con un enfoque diferente, los dominios variables de anticuerpo con las especificidades de unión deseadas (sitios de combinación de anticuerpo y antígeno) se fusionan con secuencias de dominio constante de inmunoglobulina.

[0120] Las moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) también incluyen anticuerpos reticulados o “heteroconjugados”. También se han descrito en la bibliografía técnicas para generar anticuerpos biespecíficos a partir de fragmentos de anticuerpos. Por ejemplo, se pueden preparar moléculas de unión multiespecíficas (p. ej., biespecíficas) mediante enlace químico. En algunas modalidades, una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) comprende un primer anticuerpo de IgG que comprende el primer dominio de unión al antígeno enlazado covalentemente a un segundo anticuerpo de IgG que comprende el segundo dominio de unión al antígeno.

[0121] En algunas modalidades, el primer brazo está acoplado a avidina, estreptavidina, neutravidina o un derivado de unión a biotina de estas, y el segundo brazo está acoplado a biotina o un derivado de unión a avidina de esta. En algunas modalidades, el segundo brazo está acoplado a avidina, estreptavidina, neutravidina o un derivado de unión a biotina de estas, y el primer brazo está acoplado a biotina o un derivado de unión a avidina de esta. En algunas modalidades, el primer brazo está unido al segundo brazo a través de una interacción entre la avidina, estreptavidina, neutravidina o derivado de unión a biotina de estas y la biotina o derivado de unión a avidina de esta. Se conocen en la técnica ejemplos de avidinas, estreptavidinas, neutravidinas o derivados de unión a biotina de estas. En algunas modalidades, la estreptavidina es estreptavidina monomérica (mSA). Se conocen en la técnica ejemplos de biotinas o derivados de unión a avidina de estas. En algunas modalidades, un brazo de unión al antígeno de este de la presente divulgación está biotinilado.

[0122] En algunas modalidades, uno o ambos del primer y segundo brazo comprenden una etiqueta, p. ej., para purificación por afinidad. En algunas modalidades, la etiqueta es una etiqueta de polihistidina.

[0123] En algunas modalidades, uno o ambos del primer y segundo brazo son Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fab'-SH, F(ab')₂, anticuerpos de cadena sencilla, nanocuerpos o fragmentos scFv. En algunas modalidades, uno o ambos del primer y segundo brazo comprenden además un

dominio Fc. En algunas modalidades, el primer brazo es un fragmento Fab, y el segundo brazo es un anticuerpo de longitud completa. En algunas modalidades, el primer y segundo brazo son ambos semianticuerpos de longitud completa.

[0124] En algunas modalidades, una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la presente divulgación comprende un primer brazo (p. ej. un brazo anti-Dectina-1) que comprende un primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo y un segundo brazo (p. ej., un brazo anti-Trop-2) que comprende un segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 u 88, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 u 88, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87 u 88, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 o 90, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 o 90, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28 o 90, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32 o 91, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111 o 112, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105 o 106, y el segundo

polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111 o 112, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el

5 segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107 o 108, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111 o 112, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la

10 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109 o 110, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99 o 100, el primer polipéptido de

15 cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105 o 106, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la

20 SEQ ID NO:99 o 100, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107 o 108, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo

25 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99 o 100, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109 o 110, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el primer

30 polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101 o 102, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105 o 106, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101 o 102, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107 o 108, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101 o 102, el primer polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:33, el segundo polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109 o 110, y el segundo polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0125] En algunas modalidades, una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la presente divulgación comprende un primer brazo (p. ej. un brazo anti-Dectina-1) que comprende un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) enlazado a una región Fc y un segundo brazo (p. ej., un brazo anti-Trop-2) que comprende un polipéptido de cadena pesada de anticuerpo y un polipéptido de cadena ligera de anticuerpo. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 o 72 y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76 o 77 y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 o 36, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81 u 82 y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:103 o 104, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105 o 106 y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:103 o 104, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107 o 108 y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78. En algunas modalidades, el primer brazo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 o 104, el polipéptido de cadena pesada de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109 o 110 y el polipéptido de cadena ligera de anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83.

[0126] En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona un polinucleótido que codifica la molécula de unión multiespecífica de cualquiera de las modalidades anteriores. En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona un vector (p. ej., un vector de expresión) que comprende el polinucleótido de cualquiera de las modalidades anteriores. En algunas modalidades, cada brazo de una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la presente divulgación está codificada por un polinucleótido o vector separado. En algunas modalidades, un único polinucleótido o vector codifica ambos brazos de una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de la presente divulgación.

[0127] En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona una célula hospedadora (p. ej., una célula hospedadora aislada o una línea celular) que comprende el polinucleótido o vector de cualquiera de las modalidades anteriores. En algunas modalidades, la célula hospedadora es una célula hospedadora eucariota. En algunas modalidades, la célula hospedadora es una célula hospedadora de insecto o de mamífero. Cualquiera de estas puede ser útil en los métodos de producción y/o tratamiento divulgados en el presente documento. Los ejemplos de líneas de células hospedadoras de mamíferos útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); línea de riñón embrionario humano (293 o células 293 subclonadas para crecimiento en cultivo en suspensión, Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)); células de riñón de hámster bebé (BHK, ATCC CCL 10); células de ovario de hámster chino/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)); células de sertoli de ratón (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)); células de riñón de

mono (CV1 ATCC CCL 70); células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL-1587); células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA, ATCC CCL 2); células de riñón canino (MDCK, ATCC CCL 34); células de hígado de rata búfala (BRL 3A, ATCC CRL 1442); células de pulmón humano (W138, ATCC CCL 75); células de hígado humano (Hep G2, HB 8065); tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51); células TRI (Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982)); células MRC 5; células FS4; células CHOK1, células CHOK1SV o derivados y una línea de hepatoma humano (Hep G2).

[0128] En algunas modalidades, una molécula de unión multiespecífica afucosilada o no fucosilada se produce en una línea celular con una modificación genética que da como resultado una molécula de unión multiespecífica afucosilada o no fucosilada. Los ejemplos de líneas celulares que producen productos afucosilados incluyen células CHO Lec13 con deficiencia de fucosilación proteica (Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986); sol. de pat. de EE. UU. n.º 2003/0157108 A1, Presta, L; y WO 2004/056312 A1, Adams et al., especialmente en el Ejemplo 11), y líneas celulares inactivadas, tales como las células CHO inactivadas del gen de alfa-1,6-fucosiltransferasa, FUT8 (Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)), células que sobreexpresan β 1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnT-III) y μ -manosidasa II de Golgi (ManII), y células con una inactivación en la manosil-glucoproteína 2-beta-N-acetilglucosaminiltransferasa (MGAT1; véase Byrne, G. et al. (2018) *PLoS Biol.* 16:e2005817).

[0129] En algunas modalidades, una molécula de unión multiespecífica afucosilada o no fucosilada se produce en una línea celular tratada con un inhibidor de enzima/s de glucoprocesamiento, tal como kifunensina, que es un inhibidor de la manosidasa I (véase, por ejemplo, Elbein, A.D. et al. (1990) *J. Biol. Chem.* 265:15599-15605). Por ejemplo, las células pueden centrifugarse y volver a suspenderse en un medio de crecimiento que comprenda kifunensina (p. ej., a 250 μ g/mL), luego cultivarse y usarse para la producción.

[0130] En algunas modalidades, en el presente documento se proporciona un método para producir una molécula de unión multiespecífica, que comprende cultivar la célula hospedadora de cualquiera de las modalidades anteriores en condiciones adecuadas para la producción de la molécula de unión multiespecífica. En algunas modalidades, el método comprende además recuperar la molécula de unión multiespecífica. Las moléculas de unión multiespecíficas pueden producirse utilizando técnicas recombinantes convencionales, como se describe en el presente

documento y/o como se ejemplificará más adelante.

[0131] Los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos pueden producirse utilizando métodos recombinantes. Por ejemplo, el ácido nucleico que codifica el anticuerpo/fragmento puede aislarse e insertarse en un vector replicable para clonación adicional o expresión. El ADN que codifica el anticuerpo/fragmento puede ser fácilmente aislado y secuenciado mediante el uso de procedimientos convencionales (p. ej., mediante sondas de oligonucleótidos capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo/fragmento). Se conocen en la técnica muchos vectores; los componentes vectoriales incluyen, de modo no taxativo, uno o más de los siguientes: una secuencia señal, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de terminación de la transcripción. Las células hospedadoras adecuadas para clonar o expresar el ADN en los vectores del presente documento son las células procariotas, de levadura o eucariotas superiores. Al emplear técnicas recombinantes, se puede producir el anticuerpo/fragmento a nivel intracelular, en el espacio periplasmático o secretarse directamente al medio. Si el anticuerpo/fragmento se produce en forma intracelular se retiran los residuos particulados, ya sean células hospedadoras o fragmentos lisados, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Cuando el anticuerpo/fragmento se secreta en el medio, los sobrenadantes de esos sistemas de expresión son generalmente concentrados, en primer lugar, mediante un filtro de concentración de proteínas comercialmente disponibles.

II. Métodos de uso

[0132] En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona métodos para el tratamiento del cáncer, que comprenden administrar una cantidad eficaz de una molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) o composición de la presente divulgación a un individuo que lo necesite. En algunas modalidades, el individuo es un ser humano. En algunas modalidades, el individuo tiene o ha sido diagnosticado cáncer. Cualquiera de las moléculas de unión multiespecíficas de la presente divulgación (p. ej., como se describió anteriormente en la sección I) puede ser útil en los métodos de tratamiento y usos divulgados en el presente documento, así como las composiciones (p. ej., composiciones farmacéuticas) relacionadas con estas.

[0133] En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer sólido. En algunas modalidades, en donde el cáncer es cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer urotelial, cáncer de cuello

uterino, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de endometrio, cáncer gástrico, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de piel (p. ej., melanoma), cáncer de pulmón, cáncer de ovario o cáncer de útero. En algunas modalidades, las células del cáncer expresan Trop-2. Los tipos de cáncer ilustrativos

5 demostrados en el presente documento que expresan Trop-2 y contemplados para el tratamiento con los métodos de la presente divulgación incluyen, de modo no taxativo, carcinoma de células escamosas de cuello uterino, carcinoma urotelial de vejiga, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), carcinoma de células escamosas de esófago, adenocarcinoma endocervical, carcinoma de células escamosas de pulmón, adenocarcinoma

10 de próstata, cáncer papilar de tiroides, carcinoma mucinoso, carcinoma endometriode, adenocarcinoma pancreático, carcinoma lobulillar infiltrante de mama, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma endometriode uterino, cáncer de ovario seroso, carcinoma infiltrante de mama (NOS), carcinoma ductal infiltrante de mama, carcinoma seroso uterino, cáncer de mama metaplásico, carcinoma endometrial mixto uterino, carcinoma mucinoso mixto infiltrante de

15 mama, carcinoma papilar de células renales, adenocarcinoma de esófago, adenocarcinoma de estómago, carcinoma infiltrante de mama, colangiocarcinoma intrahepático, colangiocarcinoma, adenocarcinoma tubular de estómago, adenocarcinoma de estómago de tipo intestinal, adenocarcinoma mucinoso de estómago, adenocarcinoma papilar de estómago, adenocarcinoma de estómago de tipo difuso, teratoma, carcinoma de células en anillo de sello

20 del estómago, adenocarcinoma mucinoso del colon/recto, carcinosarcoma uterino, adenocarcinoma rectal, timoma y colangiocarcinoma perihiliar. En algunas modalidades, una muestra obtenida del cáncer del individuo es positiva para la expresión de Trop-2. En algunas modalidades, los métodos comprenden además la obtención de una muestra del cáncer del individuo, en donde la muestra comprende células cancerosas (p. ej., que expresan Trop-2).

25 **[0134]** En algunas modalidades, el cáncer responde a la inmunoterapia de agente único (p. ej., tratamiento de agente único con inhibidor del punto de control inmunitario), p. ej., antes de la administración de la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica). En algunas modalidades, el cáncer no responde a la inmunoterapia de agente único (p. ej., tratamiento de agente único con inhibidor del punto de control inmunitario), p. ej., antes de la administración

30 de la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica). De manera ventajosa, como se demuestra en este documento, las moléculas de unión multiespecíficas de la presente

divulgación tienen actividad antitumoral contra modelos tumorales con distintos microambientes tumorales, incluidos modelos de tumores tanto “calientes” (p. ej., caracterizados por infiltración de células inmunitarias y/o capacidad de respuesta al tratamiento de agente único con una inmunoterapia tal como un inhibidor del punto de control inmunitario) como “fríos” (p. ej., caracterizados por falta de infiltración de células inmunitarias y/o capacidad de respuesta reducida o mínima al tratamiento de agente único con una inmunoterapia tal como un inhibidor del punto de control inmunitario).

III. Composiciones y kits

[0135] En determinados aspectos, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden la molécula de unión multiespecífica (p. ej., biespecífica) de cualquiera de las modalidades divulgadas en el presente documento y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0136] Las composiciones y formulaciones farmacéuticas que se describen en el presente documento pueden prepararse mezclando los ingredientes activos (tal como una molécula de unión multiespecífica) que tengan el grado deseado de pureza con uno o más portadores opcionales farmacéuticamente aceptables (*Remington's Pharmaceutical Sciences*, 16.^a edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores farmacéuticamente aceptables son generalmente no tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen, de modo no taxativo: agentes de amortiguación tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes; polipéptidos de peso molecular bajo (menos de alrededor de 10 residuos); proteínas, tales como seroalbúmina, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (p. ej., complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como polietilenglicol (PEG).

[0137] Determinados aspectos de la presente divulgación se refieren a kits o artículos de fabricación que comprenden cualquiera de los moléculas de unión multiespecíficas que se divulgan en el presente documento. En algunas modalidades, el artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta o un prospecto en o relacioando con el recipiente. En

algunas modalidades, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para usar la molécula de unión multiespecífica de acuerdo con cualquiera de los métodos divulgados en el presente documento, p. ej., para el tratamiento del cáncer.

- 5 [0138] Recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, etc. Los recipientes pueden estar formados a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente contiene una composición que es eficaz para el tratamiento de la afección y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa o un vial de solución intravenosa con un tapón perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un anticuerpo o una molécula
- 10 de unión multiespecífica como se describe en el presente documento. La etiqueta o el prospecto indica que la composición se utiliza para el tratamiento de la afección particular. La etiqueta o el prospecto comprenderá además instrucciones para administrar la composición de moléculas de unión multiespecíficas al sujeto. También se contemplan artículos de fabricación y kits que comprendan las terapias combinatorias descritas en el presente documento.
- 15 [0139] La descripción que sigue se presenta para permitir a un experto en la técnica realizar y usar las diversas modalidades. Las descripciones de dispositivos, técnicas y aplicaciones de carácter específico se proporcionan únicamente como ejemplos. Diversas modificaciones de los ejemplos descritos en la presente serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica, y los principios generales definidos en la presente pueden aplicarse a otros ejemplos y
- 20 aplicaciones sin apartarse del espíritu y alcance de las diversas modalidades. Por lo tanto, no se pretende que las diversas modalidades se limiten a los ejemplos descritos en la presente y mostrados, sino que se les debe atribuir el alcance coherente con las reivindicaciones.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Caracterización de unión de anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x Trop-2

- 25 [0140] Este ejemplo caracteriza la unión de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 a sus dianas.

Materiales y métodos

Anticuerpos biespecíficos

- 30 [0141] Para el formato Fab mostrado en la **Figura 1A**, el brazo de unión anti-Dectina-1 comprendía dominios variables con las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:24 para el dominio VH y la SEQ ID NO:25 para el dominio VL. Para el formato scFv que se muestra en

la **Figura 1C**, el brazo de unión anti-Dectina-1 comprendía un scFv con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:34. Para el formato Fab que se muestra en la **Figura 1B** con disulfuros modificados genéticamente en el brazo de unión anti-Dectina-1, el brazo de unión anti-Dectina-1 comprendía dominios variables con las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:30 para el dominio VH y la SEQ ID NO:31 para el dominio VL.

[0142] Para el brazo de unión anti-Trop-2 en todos los formatos, los dominios variables tenían las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:69 para el dominio VH y la SEQ ID NO:70 para el dominio VL para el Clon A, las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:74 para el dominio VH y la SEQ ID NO:75 para el dominio VL para el Clon B, y las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 para el dominio VH y la SEQ ID NO:80 para el dominio VL para el Clon C, respectivamente. Todos los anticuerpos biespecíficos utilizaron una región Fc de IgG1 humana.

Citometría de flujo

[0143] Las líneas celulares de cáncer humano y las células CHO que expresan Trop-2 humana (células CHO-K1-hTrop2) se incubaron con los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2, clones de Trop-2 15, 45, 76, 77, 63, 64, 65 y 123, o el isotipo hIgG1, seguido de un anticuerpo secundario antihumano fluorescente. Los anticuerpos primarios se utilizaron con ajuste de la dosis en serie de 8 puntos comenzando en 300 o 100 nM y diluidos de 1 a 3.

Interferometría de biocapa (BLI)

[0144] La afinidad de unión monovalente se midió mediante un biosensor (BLI). La proteína ECD Trop-2 humana se capturó en un biosensor a través de una etiqueta anti-HIS. Se midió la constante de asociación y disociación con respecto a anticuerpos biespecíficos con 1 brazo unido a hTrop2 en concentraciones variables. Las mediciones de constante de asociación y constante de disociación se ajustaron a los valores de K_D generados.

Secreción de SEAP

[0145] Se utilizaron células HEK-Blue hDectina-1a modificadas genéticamente para expresar la isoforma A de la Dectina-1 y los genes que participan en la vía de señalización Dectina-1/NF- κ B/SEAP (expresando así una fosfatasa alcalina secretada (SEAP) en respuesta a la estimulación por ligandos de Dectina-1). Las líneas celulares de cáncer humano que expresan Trop-2 se trataron con una dilución en serie de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 en presencia de la línea celular HEK indicadora que expresa Dectina-1. Después de

24 horas de tratamiento, se recogió el sobrenadante para probar la actividad de la SEAP impulsada por NF-kB inducida por Dectina-1.

Resultados

[0146] Los tres anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 demostraron una unión de alta afinidad a las células que expresan Trop-2 humana, incluidas las líneas celulares de cáncer humano y las células CHO modificadas genéticamente para expresar Trop-2 humana (**Figuras 2A-2D**). Los valores de unión de EC50 de cada anticuerpo a cada diana se muestran en la Tabla 1. Sin desear limitarse a la teoría, se cree que los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 pueden acoplar eficientemente las células mieloides a las células cancerosas que expresan Trop-2, lo que facilita la estimulación inmunitaria mediada por Dectina-1, la fagocitosis de las células tumorales y la presentación de antígenos. De manera ventajosa, los clones B y C anti-Trop-2 provienen de ratones humanizados (a diferencia de los anticuerpos humanizados como el clon A) y, por lo tanto, pueden ser más parecidos a los humanos y presentar menos riesgo de inmunogenicidad.

Tabla 1. Unión de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 a las líneas celulares analizadas (EC50, nM).

Anticuerpo biespecífico	A-431	NCI-N87	SKBR3	CHO-K1-hTrop2
2M24 x Trop-2 clon A hG1	6,12	11,68	18,47	3,78
2M24 x Trop-2 clon C hG1	53,23	39,46	28,04	7,25
2M24 x Trop-2 clon B hG1	7,563	17,85	24,22	4,32

[0147] La afinidad de unión monovalente de cada anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 a ECD de Trop-2 humana también se midió mediante un biosensor (BLI). Las mediciones se proporcionan en la Tabla 2.

Tabla 2. Caracterización de anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que se une a hTrop-2 ECD por BLI.

Clon	K _{off} (1/s)	K _{on} (1/Ms)	K _D (M)	Grupo
Clon A	8,91E-04	2,17E+05	4,12E-09	A
Clon B	4,75E-04	4,97E+04	9,55E-09	A
Clon C	1,81E-03	1,40E+05	1,29E-08	B

[0148] También se midió la capacidad de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-

Trop-2 para activar la vía Dectina-1 en presencia de células que expresan hTrop-2. Los tres anticuerpos biespecíficos indujeron la activación de la vía Dectina-1 en presencia de líneas celulares que expresaban Trop-2 (**Figuras 3A-3D**). Los valores de EC50 de cada anticuerpo en cada línea celular se muestran en la Tabla 3. Se descubrió que la actividad de secreción de SEAP se correlacionaba con los datos de unión; el anticuerpo biespecífico con dominio de unión anti-Trop-2 del clon C tenía el EC50 más débil y el Ymáx más bajo.

Tabla 3. Activación de la vía de Dectina-1 en presencia de líneas celulares que expresan hTrop-2 indicadas (EC50, µg/mL).

Anticuerpo	A-431	NCI-N87	SKBR3	CHO-K1-hTrop2
2M24 x Trop-2 clon A hG1	0,05	0,04	0,04	0,06
2M24 x Trop-2 clon B hG1	0,04	0,03	0,04	0,07
2M24 x Trop-2 clon C hG1	0,08	0,06	0,05	0,05

[0149] Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 mostraron una activación dependiente de la dosis de NF-kB en presencia de líneas celulares de cáncer humano y células CHO-K1-hTrop2. La expresión de Trop-2 en las líneas celulares utilizadas varió de 50 000 a 400 000 copias, lo que indica que los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 pueden inducir la agrupación de Dectina-1 y la activación de la vía NF-kB secuencia abajo en presencia de niveles altos o bajos de expresión de Trop-2.

[0150] También se probaron los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 en el formato que se muestra en la **Figura 1C**. Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que utilizan el formato scFv para el brazo anti-Dectina-1 mostraron una unión específica a las células que expresan hDectina-1 (**Figura 4A**) o hTrop-2 (**Figura 4B**) comparable al formato Fab. Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que utilizan el formato scFv también indujeron la activación de Dectina-1 medida mediante la secreción de SEAP (**Figura 4C**). Se cree que el uso de un brazo Dectina-1 basado en scFv (a diferencia de un brazo basado en Fab de anticuerpo tradicional) es ventajoso en la fabricación, ya que estos anticuerpos biespecíficos tienen una menor formación de dímeros en la purificación y una mayor estabilidad a largo plazo. Este dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 específico también demuestra una afinidad mejorada y un riesgo de susceptibilidad potencialmente menor debido a la eliminación de ciertos aminoácidos en comparación con el dominio de unión al antígeno 2M24 original.

[0151] También se probaron los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 en el formato que se muestra en la **Figura 1B** con disulfuros modificados genéticamente en el brazo Fab anti-Dectina-1. Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que usan el formato Fab con disulfuros modificados genéticamente en el brazo anti-Dectina-1 arm mostraron una unión específica a células que expresan hDectina-1 (**Figura 5A**) o hTrop-2 (**Figura 5B**) comparable al formato Fab. Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que usan el formato Fab con disulfuros modificados genéticamente en el brazo anti-Dectina-1 arm también indujeron la activación de Dectina-1 tal como se mide según la secreción de SEAP (**Figura 5C**). De manera ventajosa, se cree que el uso de un brazo de unión anti-Dectina-1 con disulfuros modificados genéticamente ayuda a la fabricación al facilitar el emparejamiento adecuado de la cadena pesada y la cadena ligera durante la coexpresión de los brazos de anticuerpos biespecíficos. Este dominio de unión al antígeno anti-Dectina-1 específico también demuestra una afinidad mejorada y un riesgo de susceptibilidad potencialmente menor debido a la eliminación de ciertos aminoácidos en comparación con el dominio de unión al antígeno 2M24 original.

[0152] En resumen, los tres formatos proporcionaron anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que se unen a cada diana con alta afinidad e inducen la activación de la vía Dectina-1.

Ejemplo 2: Caracterización funcional de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x Trop-2

[0153] Este ejemplo caracteriza las actividades funcionales de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2.

Materiales y métodos

Fagocitosis

[0154] Análisis de citometría de flujo de cocultivos de macrófagos humanos y células de cáncer humano marcadas con calceína AM (relación efectora:diana 3:1) en presencia de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 (con Fc de IgG1 humana) o control de isotipo. Los cocultivos se incubaron a 37 °C durante 24 horas y luego se tiñeron con un anticuerpo PE a-CD206 para marcar los macrófagos. La fagocitosis se cuantificó como el porcentaje de células cancerosas FITC+ engullidas por macrófagos en la ventana de adquisición individual. Los anticuerpos primarios se utilizaron con un ajuste de la dosis en serie. El anticuerpo biespecífico

utilizó el formato Fab que se muestra en las **Figuras 1A y 1B**. El brazo de unión anti-Dectina-1 comprendía dominios variables con las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:24 para el dominio VH y la SEQ ID NO:25 para el dominio VL. Para el brazo de unión anti-Trop-2, los dominios variables tenían las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:69 para el dominio VH y la SEQ ID NO:70 para el dominio VL para el Clon A, las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:74 para el dominio VH y la SEQ ID NO:75 para el dominio VL para el Clon B, y las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 para el dominio VH y la SEQ ID NO:80 para el dominio VL para el Clon C, respectivamente. Todos los anticuerpos biespecíficos utilizaron una región Fc de IgG1 humana.

10 *Liberación de citocinas*

[0155] Los PBMC y las células CHO-K1-hTrop2 se mezclaron en una relación de 3:1 en presencia de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 o control de isotipo. Los cocultivos se incubaron a 37 C durante 24 horas y se recogieron los sobrenadantes para el análisis de citocinas mediante MSD (Meso Scale Discovery). El anticuerpo biespecífico utilizó el formato Fab que se muestra en la **Figura 1A**. El brazo de unión anti-Dectina-1 comprendía dominios variables con las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:24 para el dominio VH y la SEQ ID NO:25 para el dominio VL. Para el brazo de unión anti-Trop-2, los dominios variables tenían las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:69 para el dominio VH y la SEQ ID NO:70 para el dominio VL para el Clon A, las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:74 para el dominio VH y la SEQ ID NO:75 para el dominio VL para el Clon B, y las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 para el dominio VH y la SEQ ID NO:80 para el dominio VL para el Clon C, respectivamente. Todos los anticuerpos biespecíficos utilizaron una región Fc de IgG1 humana.

Modelos tumorales singénicos

[0156] Se inocularon por vía subcutánea ratones Balb/c hembra de ocho semanas de edad o ratones C57BL6 con 2 millones de células de cáncer de colon de ratón que sobreexpresaban Trop2 humana (hTrop2-CT26) o 0,5 millones de células de cáncer de melanoma de ratón que sobreexpresaban Trop2 humana (hTrop2-B16F10), respectivamente. Cuando los tumores alcanzaron los 80 mm³, los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en 4 grupos de 12 ratones cada uno y recibieron seis dosis de anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fab anti-mDectina-1 y clon A, B o C anti-Trop-2 junto con Fc de mIgG2a (o control de isotipo) por

vía intraperitoneal a 10 mg/kg dos veces por semana. El volumen tumoral y el peso corporal se midieron 2-3 veces por semana. El anticuerpo biespecífico utilizó el formato Fab que se muestra en la **Figura 1A**. El brazo de unión anti-Dectina-1 utilizó dominios variables anti-Dectina-1 de ratón. Para el brazo de unión anti-Trop-2, los dominios variables tenían las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:69 para el dominio VH y la SEQ ID NO:70 para el dominio VL para el Clon A, las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:74 para el dominio VH y la SEQ ID NO:75 para el dominio VL para el Clon B, y las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 para el dominio VH y la SEQ ID NO:80 para el dominio VL para el Clon C, respectivamente. Todos los anticuerpos biespecíficos utilizaron una región Fc de IgG2a de ratón.

[0157] Para probar directamente el brazo de unión anti-Dectina-1 2M24.119, se inocularon por vía subcutánea ratones C57BL6 de ocho semanas de edad, de género mixto, que expresaban Dectina1 humana, con 0,5 millones de células cancerosas de melanoma de ratón, que sobreexpresaban Trop2 humana (hTrop2-B16F10). Cuando los tumores alcanzaron los 80 mm³, los ratones fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de 12 ratones cada uno y recibieron seis dosis de anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 con Fc de mIgG2a (o control de isotipo) por vía intraperitoneal a 10 mg/kg dos veces por semana. El volumen tumoral y el peso corporal se midieron 2-3 veces por semana. El anticuerpo biespecífico utilizó el formato Fab que se muestra en la **Figura 1B**. El brazo de unión anti-Dectina-1 utilizó las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:30 para el dominio VH y la SEQ ID NO:31 para el dominio VL. Para el brazo de unión anti-Trop-2, los dominios variables tenían las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:69 para el dominio VH y la SEQ ID NO:70 para el dominio VL para el Clon A, las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:74 para el dominio VH y la SEQ ID NO:75 para el dominio VL para el Clon B, y las secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 para el dominio VH y la SEQ ID NO:80 para el dominio VL para el Clon C, respectivamente. Todos los anticuerpos biespecíficos utilizaron una región Fc de IgG2a de ratón.

Disminución de células cancerosas en biopsias de tejido humano

[0158] Las biopsias de cáncer humano se disociaron enzimáticamente y se generó una suspensión de células individuales. Se trataron de 300 000 a 500 000 células con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 que tenían la región Fc de IgG1 humana a 5 µg/ml

durante 24 horas. Las células cancerosas se tiñeron con el anticuerpo APC-EPCAM. Las células cancerosas restantes se evaluaron como células individuales/vivas/CD45-/EPCAM+ y se expresaron como porcentaje de células vivas.

Resultados

- 5 **[0159]** Se probó *in vitro* la capacidad de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 para inducir la fagocitosis de líneas celulares de cáncer por macrófagos humanos. Se descubrió que los tres anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 inducían la fagocitosis de las células A-431, NCI-N87 y SKBR3 (**Figuras 6A-6C**). Los valores de EC50 de cada anticuerpo contra cada tipo celular se muestran en la Tabla 4.

- 10 **Tabla 4.** Inducción de fagocitosis *in vitro* contra la línea celular indicada por el anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 indicado (EC50, nM).

Anticuerpo	A-431	NCI-N87	SKBR3
2M24 x Trop-2 clon A hG1	0,31	0,1996	0,5075
2M24 x Trop-2 clon B hG1	0,34	1,124	0,2688
2M24 x Trop-2 clon C hG1	0,45	0,1321	0,3190

- [0160]** En resumen, las células cancerosas se agotaron *in vitro* mediante fagocitosis utilizando los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2. El agotamiento fue mediado por el receptor para el Fcγ. Estos datos respaldan el poder de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 para facilitar la interacción y eliminación de las células de cáncer humano que expresan Trop-2 por parte de los macrófagos humanos.

- [0161]** También se midió la secreción de citocinas en cocultivos de PBMC humanos y células CHO-K1 que expresan hTrop-2 tratadas con anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2. Como se muestra en las **Figuras 7A-7D**, la secreción de citocinas no se vio afectada significativamente por el anticuerpo biespecífico anti-Dectina-1 x anti-Trop-2.

- [0162]** Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 también se probaron en modelos de tumores de ratón singénicos utilizando un brazo de unión sustituto anti-mDectina-1 y Fc de mIgG2a. Se descubrió que los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 inhibían el crecimiento tumoral tanto en modelos de cáncer de colon (**Figura 8A**) como de melanoma (**Figura 8B**), lo que demuestra una eficacia significativa en ambos modelos preclínicos. De manera ventajosa, el anticuerpo biespecífico con clon B anti-Trop-2 mostró la mayor actividad antitumoral. Se pensaba que estos modelos tenían diferencias fundamentales

en el microambiente tumoral. Los tumores CT26 se consideran “calientes” con más células inmunitarias infiltradas y generalmente responden a moduladores inmunitarios. Por el contrario, las B16F10 se consideran “frías” con menos infiltración de células inmunitarias y no responden a la inmunoterapia de agente único. La eficacia producida en ambos modelos respalda la versatilidad de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 para trabajar tanto en tumores “calientes” como en tumores “fríos” más difíciles de tratar, gracias a su capacidad para modular el microambiente tumoral.

[0163] Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 también se probaron en un modelo de tumor B16F10 de ratón singénico utilizando los dominios variables anti-Dectina-1 modificados por disulfuro en ratones que expresan Dectina-1 humana. Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 mostraron una eficacia antitumoral significativa en este modelo de melanoma (**Figura 9**). Este estudio demuestra directamente la capacidad de los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 para conferir efectos antitumorales al interactuar con la Dectina-1 humana, lo que respalda el uso de anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 en oncología.

[0164] También se probaron los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 para determinar su capacidad de agotar suspensiones de células individuales derivadas de biopsias de tumores. Se descubrió que los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 inducen el agotamiento de células tumorales en biopsias de cáncer de pulmón humano (**Figura 10A**), ovario (**Figura 10B**) y útero (**Figura 10C**). Los anticuerpos biespecíficos anti-Dectina-1 x anti-Trop-2 lograron una reducción del 20-50 % de las células cancerosas que expresan Trop-2 en varias biopsias de cáncer humano. De manera ventajosa, el anticuerpo biespecífico con clon B mejorada Trop-2 mostró una actividad mejorada.

[0165] Estos datos indican que los anticuerpos biespecíficos inducen la fagocitosis y eliminación de células cancerosas por parte de los macrófagos asociados al tumor en biopsias de cáncer sólido, lo que es indicativo de actividad en un ambiente de tejido canceroso endógeno. Como Trop-2 se expresa ampliamente en cánceres humanos, como se analiza mediante el nivel de expresión de ARNm (**Figura 10D**), esta estrategia puede ser ampliamente aplicable en tumores sólidos.

[0166] Si bien la presente divulgación se describió de forma detallada a modo ilustrativo y de ejemplo, a los efectos de claridad de comprensión, las descripciones y los ejemplos no deben

interpretarse como limitantes del alcance de la presente divulgación. La divulgación de todas las patentes y la literatura científica citadas en este documento se incorporan expresamente en su totalidad mediante referencia.