

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

(Examen de Forma)

1. Una molécula aislada de anticuerpo capaz de unirse al gen 3 de activación de linfocitos (LAG-3), que comprende:

(a) una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos VHCDR1 de la SEQ ID NO: 4, una secuencia de aminoácidos VHCDR2 de la SEQ ID NO: 5, y una secuencia de aminoácidos VHCDR3 de la SEQ ID NO: 3; y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos VLCDR1 de la SEQ ID NO: 13, una secuencia de aminoácidos VLCDR2 de la SEQ ID NO: 14, y una secuencia de aminoácidos VLCDR3 de la of SEQ ID NO: 15;

(b) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos VHCDR1 de la SEQ ID NO: 1; una secuencia de aminoácidos VHCDR2 de la SEQ ID NO: 2; y una secuencia de aminoácidos VHCDR3 de la SEQ ID NO: 3; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos VLCDR1 de la SEQ ID NO: 10, una secuencia de aminoácidos VLCDR2 de la SEQ ID NO: 11, y una secuencia de aminoácidos VLCDR3 de la SEQ ID NO: 12;

(c) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos VHCDR1 de la SEQ ID NO: 286, una secuencia de aminoácidos VHCDR2 de la SEQ ID NO: 5, y una secuencia de aminoácidos VHCDR3 de la SEQ ID NO: 3; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos VLCDR1 de la SEQ ID NO: 13, una secuencia de aminoácidos VLCDR2 de la SEQ ID NO: 14, y una secuencia de aminoácidos VLCDR3 de la SEQ ID NO: 15; o

(d) una VH que comprende una secuencia de aminoácidos VHCDR1 de la SEQ ID NO: 286; una secuencia de aminoácidos VHCDR2 de la SEQ ID NO: 2; y una secuencia de aminoácidos VHCDR3 de la SEQ ID NO: 3; y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos VLCDR1 de la SEQ ID NO: 10, una secuencia de aminoácidos VLCDR2 de la SEQ ID NO: 11, y una secuencia de aminoácidos VLCDR3 de la SEQ ID NO: 12.

2. La molécula de anticuerpo de la Reivindicación 1, en donde dicha molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo humanizada y/o una molécula de anticuerpo monoespecífica o biespecífica.

3. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 o 2 la cual comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende al menos una, dos, tres o cuatro regiones del marco (FW) que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOs: 187, 190, 194, 196, 198, 202, 206, 208, 210, 212, 217, 219, o 221, o una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a las mismas, o que no tiene más de dos sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos cuando se compara con cualquiera de las SEQ ID NOs: 187, 190, 194, 196, 198, 202, 206, 208, 210, 212, 217, 219, o 221; y/o

una región variable de cadena ligera que comprende al menos una, dos, tres o cuatro regiones del marco (FW) que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NOs: 226, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 244, 246, 248, 252, 255, 259, 261, 265, 267, 269, o 271, o una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a las mismas, o que no tiene más de dos sustituciones, inserciones y/o eliminaciones de aminoácidos cuando se compara con cualquiera de las SEQ ID NOs: 226, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 244, 246, 248, 252, 255, 259, 261, 265, 267, 269, o 271.

4. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, la cual comprende:

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 8, 28, 64, 68, 72, 76, 80, 100, 104, o 108, o una secuencia de aminoácidos al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 8, 28, 64, 68, 72, 76, 80, 100, 104, o 108; y/o

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 84, 88, 92, o 96, o una secuencia de aminoácidos al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 84, 88, 92, o 96.

5. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, la cual comprende:

un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos elegida de las SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 64, SEQ ID NO: 68, SEQ ID NO: 72, SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 80, SEQ ID NO: 100, SEQ ID NO: 104, o SEQ ID NO: 108; y/o

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 88, SEQ ID NO: 92, o SEQ ID NO: 96.

6. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, la cual comprende:

una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 66, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 102, SEQ ID NO: 106, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 113, SEQ ID NO: 122, o SEQ ID NO: 134; y/o

una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 62, SEQ ID NO: 86, SEQ ID NO: 90, SEQ ID NO: 94, o SEQ ID NO: 98.

7. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, la cual comprende:

(a) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32;

(b) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36;

(c) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;

(d) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44;

(e) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48;

(f) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52;

(g) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;

(h) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(i) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36;

(j) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;

(k) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;

(l) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(m) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 108; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36;

(n) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 8; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;

(o) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 8; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(p) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(q) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84;

(r) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88;

(s) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92; o

(t) un domino variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un domino variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 96.

8. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, la cual comprende:

(a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34;

(b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38;

(c) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

(d) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46;

(e) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50;

(f) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54;

(g) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

(h) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62;

(i) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 106; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38;

(j) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 106; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

(k) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 106; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58;

(l) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 106; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62;

(m) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70 o SEQ ID NO: 110; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38;

(n) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74 o SEQ ID NO: 18; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42;

(o) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74 o SEQ ID NO: 18; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62;

(p) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62;

(q) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 86;

(r) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 102; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94;

(s) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 106; y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 98;

(t) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 113 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34;

(u) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 113 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38;

(v) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 122 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38;

(w) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 122 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58; o

(x) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 134 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38.

9. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, la cual es un anticuerpo monoclonal, un Fab, F(ab')₂, un Fv, o un fragmento Fv de cadena sencilla (scFv); o comprende:

una región constante de cadena pesada seleccionada a partir de IgG1, IgG2, IgG3, y IgG4, y/o

una región constante de la cadena ligera escogida a partir de las regiones constantes de cadena ligera de kappa o lambda.

10. La molécula de anticuerpo de la Reivindicación 9, la cual comprende:

(a) una región constante de cadena pesada de IgG4 humana con una mutación en la posición 108 de la SEQ ID NO: 275 o 277 y una región constante de cadena ligera kappa;

(b) una región constante de cadena pesada de IgG4 humana con una mutación de Serina a Prolina en la posición 108 de la SEQ ID NO: 275 o 277 y una región constante de cadena ligera kappa;

(c) una región constante de cadena pesada de IgG1 humana con una mutación de Asparagina a Alanina en la posición 180 de la SEQ ID NO: 279 y una región constante de cadena ligera kappa;

(d) una región constante de cadena pesada de IgG1 humana con una mutación de Aspartato a Alanina en la posición 148, y una mutación de Prolina a Alanina en la posición 212 de la SEQ ID NO: 280 y una región constante de cadena ligera kappa.

(e) una región constante de cadena pesada de IgG1 humana con una mutación de Leucina a Alanina en la posición 117 y una mutación de Leucina a Alanina en la posición 118 de la SEQ ID NO: 281 y una región constante de cadena ligera kappa.

11. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10, la cual
(a) es capaz de unirse al LAG-3 humano con una constante de disociación (K_D) menor a 0.2 nM aproximadamente.

(b) se une al dominio de LAG-3 similar al dominio extracelular de Ig;

(c) es capaz de reducir la unión de LAG-3 a una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II, o a una célula que expresa una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II; o

(d) es capaz de incrementar una respuesta de células T específica a antígeno.

12. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, en donde dicha molécula de anticuerpo tiene una primera especificidad de unión para LAG-3 y una segunda especificidad de unión para PD-1, TIM-3, CEACAM (*ej.*, CEACAM-1 y/o CEACAM-5), PD-L1 o PD-L2; y/o

en donde dicha molécula de anticuerpo comprende un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo, *e.j.*, medio anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno de medio anticuerpo.

13. Una composición farmacéutica que comprende la molécula aislada de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12 y un vehículo, excipiente o estabilizante farmacéuticamente aceptable.

14. Una molécula aislada de ácido nucleico que codifica las CDRs 1 a 3 de cadena pesada, y/o las CDRs 1 a 3 de cadena ligera, en donde dicho ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos de las SEQ ID NO: 140 a 287.

15. El ácido nucleico de la Reivindicación 14, que además comprende:

una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de cadena pesada, en donde dicha secuencia de nucleótidos es al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 9, 29, 65, 69, 73, 77, 81, 101, 105, 109, 112, 121, 124, 125, 132, o 133, o es al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 9, 29, 65, 69, 73, 77, 81, 101, 105, 109, 112, 121, 124, 125, 132, o 133; y/o

una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de cadena ligera, en donde dicha secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NOs: 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 85, 89, 93, 97, 115, 118, 128, 129, o 137, o es al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NOs: 33, 37, 41, 45, 49, 53, 57, 61, 85, 89, 93, 97, 115, 118, 128, 129, o 137.

16. El ácido nucleico de la Reivindicación 15, que además comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena pesada, en donde dicha secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 31, 67, 71, 75, 79, 83, 103, 107, 111, 114, 123, 126, 127, 135 o 136; o es al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 31, 67, 71, 75, 79, 83, 103, 107, 111, 114, 123, 126, 127, 135 o 136; y/o

una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera, en donde dicha secuencia de nucleótidos comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 87, 91, 95, 99, 117, 120, 130, 131, 138, o 139, o es al menos 85% idéntica a cualquiera de las SEQ ID NO: 35, 39, 43, 47, 51, 55, 59, 63, 87, 91, 95, 99, 117, 120, 130, 131, 138, o 139.

17. Un ácido nucleico aislado que codifica la región variable de la cadena pesada y/o ligera de la molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12.

18. Un vector de expresión que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las Reivindicaciones 14 a 17.

19. Una célula hospedera que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las Reivindicaciones 14 a 17.

20. Un método de producción de una molécula de anticuerpo o un fragmento de la misma, que comprende cultivar a la célula hospedera de la Reivindicación 19 en condiciones adecuadas para la expresión de genes.

21. Un método para detectar LAG-3 en una muestra biológica, que comprende (i) poner en contacto a la muestra o el sujeto (y opcionalmente, una muestra o sujeto de referencia) con una molécula aislada de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 12 bajo condiciones que permitan que ocurra la interacción entre la molécula de anticuerpo y el polipéptido, y (ii) detectar la formación de un complejo entre la molécula de anticuerpo y la muestra o el sujeto (y opcionalmente, una muestra o sujeto de referencia).
