

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Primer Examen de Fondo)

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 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 VH que comprende al menos una, dos, tres o cuatro regiones 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 VL que comprende al menos una, dos, tres o cuatro regiones marco 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:

una VH 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

una VL 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:

(i) una VH 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;

(ii) una VL 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; o

(iii) ambos (i) y (ii).

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

(i) 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;

(ii) 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; o

(iii) ambos (i) y (ii).

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

(a) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32;

(b) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36;

(c) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;

(d) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44;

(e) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48;

(f) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52;

(g) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;

(h) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(i) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36;

(j) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;

(k) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 56;

(l) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(m) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 68 o SEQ ID NO: 108; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36;

(n) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 8; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40;

(o) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 8; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(p) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60;

(q) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84;

(r) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88;

(s) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28 o SEQ ID NO: 100; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92; o

(t) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o SEQ ID NO: 104; y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 96.

8. La molécula de anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, 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 186 o 287.
15. El ácido nucleico de la Reivindicación 14, que 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 14 o 15, que 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 aislada 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 (y opcionalmente, una muestra 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 (y opcionalmente, una muestra de referencia).
