

## REIVINDICACIONES

Se reivindica:

**1.** Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que bloquea la estimulación del receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides mediada por el ligando (hGITRL), caracterizado porque comprende:

las tres regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) de la cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) contenidas dentro de una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia del 90% con una secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada (HCVR) seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 338, 98, 274, 178, 210 y 114; y

los tres CDRs de cadena ligera (LCDR1, LCDR2 y LCDR3) contenidas dentro de una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad de secuencia del 90% con un aminoácido de la región variable de la cadena ligera (LCVR) seleccionado del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 402, 106, 282, 186, 218, y 122.

**2.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo bloquea la estimulación del receptor mediada por hGITRL en ausencia de anclaje de Fc.

**3.** Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une al receptor del factor de necrosis tumoral inducido por glucocorticoides (GITR), en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: (a) las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) de una región variable de cadena pesada (HCVR) que tiene 90% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de HCVR seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOS: 338, 242, 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 258, 274, 290, 306, 322, 330, 346, 354, 362, 370, 378, 386, y 394; y (b) las CDRs de una región variable de cadena ligera (LCVR) que tiene 90% de identidad con una secuencia de aminoácidos de LCVR seleccionada del grupo

que consiste en las SEQ ID NOs: 402, 250, 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 266, 282, 298, and 314 .

**4.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una HCVR que tiene 90% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de HCVR seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 338, 242, 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 258, 274, 290, 306, 322, 330, 346, 354, 362, 370, 378, 386, y 394; y una LCVR que tiene 90% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos de LCVR seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 402, 250, 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 266, 282, 298, and 314.

**5.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

- (i) un dominio de HCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 100, 164, 196, 244, 292, 340 y 348;
- (ii) un dominio de HCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 102, 166, 198, 246, 294, 342 y 350;
- (iii) un dominio de HCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 104, 168, 200, 248, 296, 344, y 352;
- (iv) un dominio de LCDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 108, 172, 204, 252, 300 y 404;
- (v) un dominio de LCDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 110, 174, 206, 254, 302 y 406; y

- (vi) un dominio de LCDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 112, 176, 208, 256, 304 y 408.

**6.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende:

- (i) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 100; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 102; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 104; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 108; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 110; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 112;
- (ii) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 164; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 166; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 168; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 172; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 174; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 176;
- (iii) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 196; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 198; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 200; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 204; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 206; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 208;
- (iv) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 244; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 246; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 248; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID

NO: 252; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 254; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 256;

(v) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 292; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 294; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 296; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 300; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 302; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 304;

(vi) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 340; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 342; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 344; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 404; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 406; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 408; o

(vii) una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 348; una HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 350; una HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 352; una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR)-1 que comprende la SEQ ID NO: 404; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 406; y una LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 408.

7. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compite por la unión a GITR con un anticuerpo de referencia, el cual comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 98/106; 162/170; 194/202; 242/250; 290/298; 338/402; y 346/102.

8. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo en GITR que

un anticuerpo de referencia, el cual comprende un par de secuencias de aminoácidos de HCVR/LCVR seleccionadas del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 98/106; 162/170; 194/202; 242/250; 290/298; 338/402; y 346/102.

**9.** Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

**10.** Un uso de la composición para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer en un sujeto, en donde el tratamiento comprende administrar la composición de la reivindicación 9.

**11.** El uso del anticuerpo o antígeno de unión a antígeno del mismo para la preparación de un medicamento para modular la respuesta inmunitaria antitumoral en un sujeto, en donde la modulación comprende administrar al sujeto el anticuerpo que se une a GITR de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

**12.** El uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la modulación comprende además administrar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a un segundo receptor activador de células T.

**13.** El uso de acuerdo con la reivindicación 10, en donde el receptor activador de células T es CD28, OX40, CD137, CD27 o HVEM.

**14.** El uso de acuerdo con las reivindicaciones 8 a 13, que donde el tratamiento o la modulación comprende además administrar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a un receptor inhibidor de células T.

**15.** El uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el receptor inhibidor de células T es CTLA-4, PD-1, TIM-3, BTLA, VISTA o LAG-3.

**16.** El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 15, en donde el tratamiento o la modulación comprende además administrar radioterapia a dicho sujeto.

- 17.** El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 9 a 16, en donde el tratamiento o la modulación comprende además administrar uno o más agentes quimioterapéuticos.
- 18.** El uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el receptor inhibidor de células T es PD1.
- 19.** El uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el anticuerpo que se une a un receptor de células T es REGN 2810.
- 20.** El uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 a 19, en donde el anticuerpo que se une a GITR es un anticuerpo de la reivindicación 3.
- 21.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno exhibe una o más propiedades seleccionadas del grupo que consiste en:
- (i) se une a GITR humano monomérico a 37 °C con una  $K_D$  menor que alrededor de 5,0 nM, medida por resonancia de plasmones superficiales;
  - (ii) se une a GITR humano monomérico a 37 °C con una  $t_{1/2}$  de más de alrededor de 12 minutos;
  - (iii) se une a GITR humano dimérico a 37 °C con una  $K_D$  menor que alrededor de 950 pM, medida por resonancia de plasmones superficiales;
  - (iv) se une a GITR humano dimérico a 37 °C con una  $t_{1/2}$  de más de alrededor de 7 minutos; y
  - (v) se une a células de riñón de embrión humano 293 (HEK-293) D9 transfectadas con GITR humano a una  $CE_{50}$  menor que alrededor de 260 pM.

- 22.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo activa el GITR humano.
- 23.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo activa el GITR humano en ausencia de anclaje Fc.
- 24.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 23, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo activa el GITR humano a un porcentaje de activación de más de alrededor del 25% a una  $CE_{50}$  menor de alrededor de 3 nM, determinados mediante un ensayo de reportero de NF $\kappa$ B.
- 25.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 23, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo activa el GITR humano con una  $CE_{50}$  de menos de aproximadamente 1,0 nM, determinada mediante un ensayo reportero de NF $\kappa$ B.
- 26.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo genera actividad proliferativa de células T en ausencia de anclaje de Fc, determinada mediante un ensayo de proliferación de células T CD4 + vírgenes humanas.
- 27.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 26, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno genera actividad proliferativa de células T en ausencia de anclaje de Fc a una  $CE_{50}$  de alrededor de 8 nM o menor, determinada mediante un ensayo de proliferación de células T CD4+ vírgenes humanas.

**28.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo activa el GITR humano en presencia de anclaje Fc.

**29.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo genera actividad proliferativa de células T en presencia de anclaje de Fc al menos alrededor de 2 veces por sobre el fondo, determinada mediante un ensayo de proliferación de células T CD4<sup>+</sup> vírgenes humanas.

**30.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno genera actividad proliferativa de células T en presencia de anclaje de Fc a una CE<sub>50</sub> menor que alrededor de 34 nM, determinada mediante un ensayo de proliferación de células T CD4<sup>+</sup> vírgenes humanas.

**31.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 3, caracterizado porque comprende:

un HCDR-1 que comprende la SEQ ID NO: 340; un HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 342; un HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 344; una LCDR-1 que comprende la SEQ ID NO: 404; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 406; y un LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 408.

**32.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado porque comprende:

un HCDR-1 que comprende la SEQ ID NO: 244; un HCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 246; un HCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 248; una LCDR-1 que comprende la SEQ ID NO: 252; una LCDR2 que comprende la SEQ ID NO: 254; y un LCDR3 que comprende la SEQ ID NO: 256.

**33.** El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un HCVR que tiene una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 338 y un LCVR con una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 402 .

**34.** El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo la reivindicación 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un HCVR que tiene una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 242 y una LCVR con una identidad de secuencia del 90% con la SEQ ID NO: 250.