

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Merck Sharp & Dohme Corp.
 Joyce-Shaikh, Barbara A
 Zuniga, Luis A
 Blanusa, Milan A
 Schuster, Andrea A
 Schultze, Kornelia A

<120> ANTICUERPOS ANTI-ILT4 Y FRAGMENTOS DE UNIÓN A ANTÍGENO

<130> 24443-WO-PCT

<150> 62/483,019
 <151> 2017-04-17

<160> 90

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 1

Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
 100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 2
<211> 448
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65					70					75					80
Lys	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
				85					90					95	
Arg	Leu	Pro	Thr	Arg	Trp	Val	Thr	Thr	Arg	Tyr	Phe	Asp	Leu	Trp	Gly
			100					105					110		
Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser
		115					120					125			
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala
	130					135					140				
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val
145					150					155					160
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala
				165					170					175	
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val
			180					185					190		
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His
		195					200					205			
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly
	210					215					220				
Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser
225					230					235					240
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
				245					250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro
			260					265					270		
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
		275					280					285			

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 3
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 3

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 4
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ala Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 5
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 5

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Gln Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 6
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Glu Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe

130		135		140											
Tyr	Pro	Gly	Ala	Val	Thr	Val	Ala	Trp	Lys	Ala	Asp	Ser	Ser	Pro	Val
145					150					155					160
Lys	Ala	Gly	Val	Glu	Thr	Thr	Thr	Pro	Ser	Lys	Gln	Ser	Asn	Asn	Lys
				165					170					175	
Tyr	Ala	Ala	Ser	Ser	Tyr	Leu	Ser	Leu	Thr	Pro	Glu	Gln	Trp	Lys	Ser
			180					185						190	
His	Arg	Ser	Tyr	Ser	Cys	Gln	Val	Thr	His	Glu	Gly	Ser	Thr	Val	Glu
		195					200					205			
Lys	Thr	Val	Ala	Pro	Thr	Glu	Cys	Ser							
	210					215									
<210>	7														
<211>	217														
<212>	PRT														
<213>	Homo sapiens														
<400>	7														
Glu	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Pro	Ser	Val	Ser	Gly	Ala	Pro	Gly	Gln
1				5					10					15	
Arg	Val	Thr	Ile	Ser	Cys	Thr	Gly	Ser	Ser	Ser	Asn	Ile	Gly	Ala	Gly
			20					25					30		
Tyr	Asp	Val	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Leu	Pro	Gly	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu
		35					40					45			
Leu	Ile	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asn	Arg	Pro	Ser	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Val	Ser	Lys	Ser	Gly	Ala	Ser	Ala	Ser	Leu	Ala	Ile	Thr	Gly	Leu
65					70					75					80
Gln	Ala	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Ser	Phe	Asp	Asn	Ser
				85					90					95	

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 8
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Asp Ser Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

275		280		285											
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr
	290					295					300				
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
305					310					315					320
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile
				325					330					335	
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
			340					345					350		
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
		355					360					365			
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
	370					375					380				
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
385					390					395					400
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val
				405					410					415	
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
			420					425					430		
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
		435					440					445			
Leu	Gly	Lys													
	450														

<210> 9
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 9

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Asp Ala Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly Lys
450

<210> 10
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Ser Ser Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

370		375		380											
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
385					390					395					400
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val
				405					410					415	
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
			420					425					430		
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
		435					440						445		
Leu	Gly	Lys													
	450														
<210>	11														
<211>	221														
<212>	PRT														
<213>	Homo sapiens														
<400>	11														
Gln	Ser	Val	Leu	Thr	Gln	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Pro	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Ala	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Leu	Arg	Ser	Gly	Ile	Asn	Val	Asp	Thr
			20					25					30		
Tyr	Arg	Ile	His	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Ser	Pro	Pro	Gln	Tyr
		35					40					45			
Leu	Leu	Arg	Tyr	Lys	Ser	Asp	Ser	Asp	Lys	His	Gln	Gly	Ser	Gly	Val
	50					55					60				
Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Lys	Asp	Pro	Ser	Ala	Asn	Ala	Gly	Ile
65					70					75					80
Leu	Leu	Ile	Ser	Gly	Leu	Gln	Ser	Glu	Asp	Glu	Ala	Asp	Tyr	Tyr	Cys
				85				90						95	

Ala Ile Trp Tyr Ser Ser Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu
100 105 110

Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
130 135 140

Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp
145 150 155 160

Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln
165 170 175

Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu
180 185 190

Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly
195 200 205

Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215 220

<210> 12
<211> 449
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Gly Glu Trp Ile Gln Leu Trp Ser Pro Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275		280		285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val				
290		295		300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu				
305		310		315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys				
	325		330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr				
	340		345	350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr				
	355		360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu				
	370		375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu				
385		390		395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys				
	405		410	415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu				
	420		425	430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly				
	435		440	445

Lys

<210> 13
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 13

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 14
<211> 456
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Ile Pro
100 105 110

Asp Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
130 135 140

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
145 150 155 160

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
165 170 175

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

				180					185							190
Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	
		195					200					205				
Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	
	210					215					220					
Lys	Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	
225					230					235					240	
Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	
				245					250					255		
Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	
			260					265					270			
Val	Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	
		275					280					285				
Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	
	290					295					300					
Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	
305					310					315					320	
Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	
				325					330					335		
Leu	Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	
			340					345					350			
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	
		355					360					365				
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	
	370					375					380					
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	
385					390					395					400	

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455

<210> 15
<211> 219
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile
100 105 110

Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser
115 120 125

Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser
130 135 140

Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser
145 150 155 160

Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn
165 170 175

Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp
180 185 190

Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr
195 200 205

Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 17
<211> 16
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X is S or A

<400> 17

Glu Ile Asn His Xaa Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 18
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 18

Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 19
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 19

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X es N, Q, E o D

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X es S o A

<400> 20

Gly Xaa Xaa Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 21
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 21

Gln Ser Phe Asp Asn Ser Leu Ser Ala Tyr Val
1 5 10

<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 22

Ser Tyr Ala Ile Ser
1 5

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 23

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X es D o S

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X es S o A

<400> 24

Tyr Phe Xaa Xaa Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 25
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 25

Thr Leu Arg Ser Gly Ile Asn Val Asp Thr Tyr Arg Ile His
1 5 10

<210> 26

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys His Gln Gly Ser
1 5 10

<210> 27

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Ala Ile Trp Tyr Ser Ser Thr Trp Val
1 5

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Ser Tyr Ala Met His
1 5

<210> 29

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 30
<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 30

Val Gly Glu Trp Ile Gln Leu Trp Ser Pro Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 31

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 32

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 33

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr
1 5

<210> 34
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 34

Glu Leu Ser Met His
1 5

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 35

Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 36
<211> 20
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 36

Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Ile Pro Asp Asn
1 5 10 15

Trp Phe Asp Pro
20

<210> 37
<211> 14
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 37

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val His
1 5 10

<210> 38
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 38

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 39

<211> 13
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 39

Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Ser Gly Val Val
1 5 10

<210> 40
<211> 598
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 40

Met Thr Pro Ile Val Thr Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly
1 5 10 15

Pro Arg Thr His Val Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu Trp
20 25 30

Ala Glu Pro Asp Ser Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Ser
35 40 45

Cys Gln Gly Ser Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys
50 55 60

Lys Ser Ala Ser Trp Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys Asn
65 70 75 80

Gly Gln Phe His Ile Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg Tyr
85 90 95

Gly Cys Gln Tyr Tyr Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp Pro
100 105 110

Leu Val Leu Val Met Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser Ala
115 120 125

Gln Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln Cys
130 135 140

Glu Ser Gln Val Ala Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu

145					150					155					160
Glu	Glu	His	Pro	Gln	Cys	Leu	Asn	Ser	Gln	Pro	His	Ala	Arg	Gly	Ser
				165					170					175	
Ser	Arg	Ala	Ile	Phe	Ser	Val	Gly	Pro	Val	Ser	Pro	Asn	Arg	Arg	Trp
			180					185					190		
Ser	His	Arg	Cys	Tyr	Gly	Tyr	Asp	Leu	Asn	Ser	Pro	Tyr	Val	Trp	Ser
		195					200					205			
Ser	Pro	Ser	Asp	Leu	Leu	Glu	Leu	Leu	Val	Pro	Gly	Val	Ser	Lys	Lys
	210					215					220				
Pro	Ser	Leu	Ser	Val	Gln	Pro	Gly	Pro	Val	Val	Ala	Pro	Gly	Glu	Ser
225					230					235					240
Leu	Thr	Leu	Gln	Cys	Val	Ser	Asp	Val	Gly	Tyr	Asp	Arg	Phe	Val	Leu
				245					250					255	
Tyr	Lys	Glu	Gly	Glu	Arg	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu	Pro	Gly	Arg	Gln	Pro
			260					265					270		
Gln	Ala	Gly	Leu	Ser	Gln	Ala	Asn	Phe	Thr	Leu	Gly	Pro	Val	Ser	Arg
		275					280					285			
Ser	Tyr	Gly	Gly	Gln	Tyr	Arg	Cys	Tyr	Gly	Ala	His	Asn	Leu	Ser	Ser
	290					295					300				
Glu	Cys	Ser	Ala	Pro	Ser	Asp	Pro	Leu	Asp	Ile	Leu	Ile	Thr	Gly	Gln
305					310					315					320
Ile	Arg	Gly	Thr	Pro	Phe	Ile	Ser	Val	Gln	Pro	Gly	Pro	Thr	Val	Ala
				325					330					335	
Ser	Gly	Glu	Asn	Val	Thr	Leu	Leu	Cys	Gln	Ser	Trp	Arg	Gln	Phe	His
			340					345					350		
Thr	Phe	Leu	Leu	Thr	Lys	Ala	Gly	Ala	Ala	Asp	Ala	Pro	Leu	Arg	Leu
		355					360					365			

Arg Ser Ile His Glu Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser
370 375 380

Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Leu
385 390 395 400

Asn Ser Asp Pro Tyr Leu Leu Ser His Pro Ser Glu Pro Leu Glu Leu
405 410 415

Val Val Ser Gly Pro Ser Met Gly Ser Ser Pro Pro Pro Thr Gly Pro
420 425 430

Ile Ser Thr Pro Ala Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly
435 440 445

Ser Asp Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile Gly
450 455 460

Ile Leu Val Ala Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe
465 470 475 480

Leu Ile Leu Arg His Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln
485 490 495

Arg Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro
500 505 510

Thr Asp Arg Gly Leu Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln
515 520 525

Glu Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys Asp Thr Gln Pro Glu Asp Gly
530 535 540

Val Glu Met Asp Thr Arg Ala Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln Asp Val
545 550 555 560

Thr Tyr Ala Gln Leu His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Lys Ala Thr Glu
565 570 575

Pro Pro Pro Ser Gln Glu Arg Glu Pro Pro Ala Glu Pro Ser Ile Tyr

580

585

590

Ala Thr Leu Ala Ile His
595

<210> 41
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido señal

<400> 41

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 42
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido señal

<400> 42

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys
20

<210> 43
<211> 597
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis

<400> 43

Met Thr Pro Ile Leu Met Val Leu Ile Cys Leu Gly Leu Ser Leu Gly
1 5 10 15

Pro Arg Thr His Val Gln Ala Gly Ile Leu Pro Lys Pro Thr Leu Trp
20 25 30

Ala Glu Pro Gly Ser Val Ile Ser Glu Gly Ser Pro Val Thr Leu Arg
35 40 45

Cys Gln Gly Ser Leu Gln Val Gln Glu Tyr His Leu Tyr Arg Glu Lys
50 55 60

Asn Pro Ala Ser Trp Val Arg Gln Ile Arg Gln Glu Leu Val Lys Lys
65 70 75 80

Gly Tyr Phe Ala Ile Gly Phe Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Gln Tyr
85 90 95

Arg Cys Gln Tyr Tyr Ser His Ser Trp Trp Ser Glu Pro Ser Asp Pro
100 105 110

Leu Glu Leu Val Val Thr Gly Ala Tyr Ser Lys Pro Thr Leu Ser Ala
115 120 125

Leu Pro Ser Pro Val Val Ala Ser Gly Gly Asn Val Thr Leu Gln Cys
130 135 140

Asp Ser Gln Val Ala Phe Asp Ser Phe Thr Leu Cys Lys Glu Gly Glu
145 150 155 160

Asp Glu His Pro Gln Arg Leu Asn Cys Gln Ser His Ala Arg Gly Trp
165 170 175

Ser Trp Ala Val Phe Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Ser Arg Arg Trp
180 185 190

Ser Tyr Arg Cys Tyr Gly Tyr Ile Ser Ser Ala Pro Asn Val Trp Ser
195 200 205

Leu Pro Ser Asp Leu Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly Val Ser Lys Lys
210 215 220

Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Asp Lys
225 230 235 240

Leu Thr Leu Gln Cys Gly Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Arg Phe Ala Leu
245 250 255

Tyr Lys Glu Gly Glu Gly Asp Phe Leu Gln Arg Pro Val Arg Gln Pro
260 265 270

Gln Ala Gly Leu Ser Gln Ala Asn Phe Leu Leu Gly Pro Val Ser Arg
275 280 285

Ser His Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Ser Gly Ala His Asn Leu Ser Ser
290 295 300

Glu Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Ala Gly Gln
305 310 315 320

Ile Arg Gly Arg Pro Phe Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Lys Val Val
325 330 335

Ser Gly Glu Asn Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Ser Trp Gln Phe His
340 345 350

Ala Phe Leu Leu Thr Gln Ala Gly Ala Ala Asp Ala His Leu His Leu
355 360 365

Arg Ser Met Tyr Lys Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser
370 375 380

Pro Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Arg
385 390 395 400

Ser Ser Asn Pro Tyr Leu Leu Ser Val Pro Ser Asp Pro Leu Glu Leu
405 410 415

Val Val Ser Gly Pro Ser Gly Gly Pro Ser Ser Pro Thr Thr Gly Pro
420 425 430

Thr Ser Thr Cys Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly Ser
435 440 445

Ala Pro Gln Ser Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Thr Gly Val
450 455 460

Leu Val Ala Phe Val Leu Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Phe Leu
465 470 475 480

Val Leu Arg Tyr Arg Arg Gln Gly Lys Arg Trp Thr Ser Ala Gln Arg
485 490 495

Lys Ala Asp Phe Gln His Pro Ala Gly Ala Val Glu Pro Glu Pro Arg
500 505 510

Asp Arg Gly Leu Gln Arg Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Thr Gln Glu
515 520 525

Glu Asn Leu Tyr Ala Ala Val Lys Asp Thr Gln Pro Glu Asp Gly Val
530 535 540

Glu Leu Asp Ser Arg Ala Ala Ala Ser Glu Asp Pro Gln Asp Val Thr
545 550 555 560

Tyr Ala Gln Leu Gln Ser Leu Thr Leu Arg Arg Glu Ala Thr Glu Pro
565 570 575

Pro Pro Ser Gln Glu Arg Ala Pro Pro Val Glu Ser Ser Ile Tyr Ala
580 585 590

Thr Leu Thr Ile His
595

<210> 44
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 44

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[illegible]

<210> 45
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 45

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
115 120 125

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 46
<211> 16
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Péptido señal

<400> 46

Met Pro Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala
1 5 10 15

<210> 47
<211> 16
<212> PRT
<213> CDR-H2, variante 1

<400> 47

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 48
<211> 16
<212> PRT
<213> CDR-H2, variante 2

<400> 48

Glu Ile Asn His Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 1

<400> 49

Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 50
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 2

<400> 50

Gly Gln Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 51
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 3

<400> 51

Gly Glu Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 52
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 4

<400> 52

Gly Asp Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 5

<400> 53

Gly Asn Ala Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 6

<400> 54

Gly Gln Ala Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 55
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 7

<400> 55

Gly Glu Ala Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> CDR-L2, variante 8

<400> 56

Gly Asp Ala Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 57
<211> 121
<212> PRT
<213> VH of 1E1 (G4)

<400> 57

Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85

90

95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
 100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 58
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> VL de 1E1(G4)

<400> 58

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
 85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 59
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> ILT4 Epitope 1

<400> 59

Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Ser Ala Ser Trp

1 5 10

<210> 60
<211> 7
<212> PRT
<213> ILT4 Epitope 2

<400> 60

Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu
1 5

<210> 61
<211> 4
<212> PRT
<213> ILT4 Epitope 3

<400> 61

Asn Gly Gln Phe
1

<210> 62
<211> 8
<212> PRT
<213> ILT4 Epitope 4

<400> 62

His Thr Gly Arg Tyr Gly Cys Gln
1 5

<210> 63
<211> 121
<212> PRT
<213> VH de 1E1 (Q1E)

<400> 63

Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64
<211> 124
<212> PRT
<213> VH de 2A6 (Q1E)

<400> 64

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Asp Ser Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 65
<211> 124
<212> PRT
<213> VH de 2A6 (Q1E, S102A, M119L)

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Asp Ala Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 66
<211> 124
<212> PRT
<213> VH de 2A6 (Q1E, D101S, M119L)

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Ser Ser Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 67
<211> 122
<212> PRT
<213> VH de 3G7 (Q1E)

<400> 67

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65

70

75

80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Gly Glu Trp Ile Gln Leu Trp Ser Pro Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 68

<211> 129

<212> PRT

<213> VH de 2C1 (Q1E)

<400> 68

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu
20 25 30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Ile Pro
100 105 110

Asp Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 69
<211> 121
<212> PRT
<213> VH de p1E1(G1)

<400> 69

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 70
<211> 111
<212> PRT
<213> VL de 1E1 (Q1E)

<400> 70

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 71
<211> 111
<212> PRT
<213> VL de 1E1 (Q1E, S54A)

<400> 71

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ala Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 72
<211> 111
<212> PRT
<213> VL de 1E1 (Q1E, N53Q)

<400> 72

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Gln Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 73
<211> 111
<212> PRT
<213> VL de 1E1 (Q1E, N53E)

<400> 73

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Glu Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser
85 90 95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 74
<211> 115
<212> PRT
<213> VL de 2A6

<400> 74

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Ser Gly Ile Asn Val Asp Thr
20 25 30

Tyr Arg Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr
35 40 45

Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys His Gln Gly Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Asp Pro Ser Ala Asn Ala Gly Ile
65 70 75 80

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Trp Tyr Ser Ser Thr Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu
100 105 110

Thr Val Leu
115

<210> 75
<211> 107
<212> PRT
<213> VL de 3G7

<400> 75

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 76
<211> 113
<212> PRT
<213> VL de 2C1

<400> 76

Glu Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile
100 105 110

Leu

<210> 77
<211> 111
<212> PRT
<213> VL de 1E1

<400> 77

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Val Ser Lys Ser Gly Ala Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Phe Asp Asn Ser

85

90

95

Leu Ser Ala Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 78

<211> 577

<212> PRT

<213> ILT4 humano sin péptido señal

<400> 78

Gln Thr Gly Thr Ile Pro Lys Pro Thr Leu Trp Ala Glu Pro Asp Ser
 1 5 10 15

Val Ile Thr Gln Gly Ser Pro Val Thr Leu Ser Cys Gln Gly Ser Leu
 20 25 30

Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Tyr Arg Glu Lys Lys Ser Ala Ser Trp
 35 40 45

Ile Thr Arg Ile Arg Pro Glu Leu Val Lys Asn Gly Gln Phe His Ile
 50 55 60

Pro Ser Ile Thr Trp Glu His Thr Gly Arg Tyr Gly Cys Gln Tyr Tyr
 65 70 75 80

Ser Arg Ala Arg Trp Ser Glu Leu Ser Asp Pro Leu Val Leu Val Met
 85 90 95

Thr Gly Ala Tyr Pro Lys Pro Thr Leu Ser Ala Gln Pro Ser Pro Val
 100 105 110

Val Thr Ser Gly Gly Arg Val Thr Leu Gln Cys Glu Ser Gln Val Ala
 115 120 125

Phe Gly Gly Phe Ile Leu Cys Lys Glu Gly Glu Glu Glu His Pro Gln
 130 135 140

Cys Leu Asn Ser Gln Pro His Ala Arg Gly Ser Ser Arg Ala Ile Phe
 145 150 155 160

Ser Val Gly Pro Val Ser Pro Asn Arg Arg Trp Ser His Arg Cys Tyr
165 170 175

Gly Tyr Asp Leu Asn Ser Pro Tyr Val Trp Ser Ser Pro Ser Asp Leu
180 185 190

Leu Glu Leu Leu Val Pro Gly Val Ser Lys Lys Pro Ser Leu Ser Val
195 200 205

Gln Pro Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Glu Ser Leu Thr Leu Gln Cys
210 215 220

Val Ser Asp Val Gly Tyr Asp Arg Phe Val Leu Tyr Lys Glu Gly Glu
225 230 235 240

Arg Asp Leu Arg Gln Leu Pro Gly Arg Gln Pro Gln Ala Gly Leu Ser
245 250 255

Gln Ala Asn Phe Thr Leu Gly Pro Val Ser Arg Ser Tyr Gly Gly Gln
260 265 270

Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala His Asn Leu Ser Ser Glu Cys Ser Ala Pro
275 280 285

Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Thr Gly Gln Ile Arg Gly Thr Pro
290 295 300

Phe Ile Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val Ala Ser Gly Glu Asn Val
305 310 315 320

Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Arg Gln Phe His Thr Phe Leu Leu Thr
325 330 335

Lys Ala Gly Ala Ala Asp Ala Pro Leu Arg Leu Arg Ser Ile His Glu
340 345 350

Tyr Pro Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser Pro Val Thr Ser Ala
355 360 365

His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Leu Asn Ser Asp Pro Tyr
370 375 380

Leu Leu Ser His Pro Ser Glu Pro Leu Glu Leu Val Val Ser Gly Pro
385 390 395 400

Ser Met Gly Ser Ser Pro Pro Pro Thr Gly Pro Ile Ser Thr Pro Ala
405 410 415

Gly Pro Glu Asp Gln Pro Leu Thr Pro Thr Gly Ser Asp Pro Gln Ser
420 425 430

Gly Leu Gly Arg His Leu Gly Val Val Ile Gly Ile Leu Val Ala Val
435 440 445

Val Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Leu Ile Leu Arg His
450 455 460

Arg Arg Gln Gly Lys His Trp Thr Ser Thr Gln Arg Lys Ala Asp Phe
465 470 475 480

Gln His Pro Ala Gly Ala Val Gly Pro Glu Pro Thr Asp Arg Gly Leu
485 490 495

Gln Trp Arg Ser Ser Pro Ala Ala Asp Ala Gln Glu Glu Asn Leu Tyr
500 505 510

Ala Ala Val Lys Asp Thr Gln Pro Glu Asp Gly Val Glu Met Asp Thr
515 520 525

Arg Ala Ala Ala Ser Glu Ala Pro Gln Asp Val Thr Tyr Ala Gln Leu
530 535 540

His Ser Leu Thr Leu Arg Arg Lys Ala Thr Glu Pro Pro Pro Ser Gln
545 550 555 560

Glu Arg Glu Pro Pro Ala Glu Pro Ser Ile Tyr Ala Thr Leu Ala Ile
565 570 575

His

<210> 79
<211> 447
<212> PRT
<213> HC de 1E1 (Q1E) sin la K C-terminal

<400> 79

Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser

405

410

415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
 435 440 445

<210> 80

<211> 447

<212> PRT

<213> HC de 1E1 (Q1E, S54A) sin la K C-terminal

<400> 80

Glu Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
 20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ala Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
 65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
 100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440 445

<210> 81
<211> 450
<212> PRT
<213> HC de p1E1(G1) sin la K C-terminal

<400> 81

Gln Val Gln Leu Gln Gln Trp Gly Ala Gly Leu Leu Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Leu Pro Thr Arg Trp Val Thr Thr Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly

	100		105		110												
Arg	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser		
	115						120					125					
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala		
	130					135					140						
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val		
145					150					155					160		
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala		
				165					170					175			
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val		
			180					185					190				
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His		
		195					200					205					
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys		
	210					215					220						
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly		
225					230					235					240		
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met		
				245					250					255			
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His		
			260					265					270				
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val		
		275					280					285					
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr		
	290					295					300						
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly		
305					310					315					320		

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly
450

<210> 82
<211> 450
<212> PRT
<213> HC de 2A6 (Q1E) sin la K C-terminal

<400> 82

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly	Gly	Ile	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	
50						55				60						
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	Asp	Glu	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65					70					75					80	
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85					90					95		
Ala	Arg	Tyr	Phe	Asp	Ser	Ser	Gly	Trp	Tyr	Lys	Gly	Gly	Ala	Phe	Asp	
			100					105					110			
Ile	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Met	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	
		115					120					125				
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	
	130					135					140					
Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	
145					150					155					160	
Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	
				165					170					175		
Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	
			180					185					190			
Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	
		195					200					205				
Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser	
	210					215					220					
Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	
				245					250					255		

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly
450

<210> 83
<211> 450

<212> PRT

<213> HC de 2A6 (Q1E, S102A, M119L) sin la K C-terminal

<400> 83

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Asp Ala Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn

195					200					205					
Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Arg	Val	Glu	Ser
	210					215					220				
Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Phe	Leu	Gly
225					230					235					240
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
				245					250					255	
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	Gln
			260					265					270		
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
		275					280					285			
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Tyr
	290					295					300				
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
305					310					315					320
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	Ser	Ile
				325					330					335	
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
			340					345					350		
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
		355				360						365			
Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
	370					375					380				
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
385					390					395					400
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	Thr	Val
				405					410					415	

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly
450

<210> 84
<211> 450
<212> PRT
<213> HC de 2A6 (Q1E, D101S, M119L) sin la K C-terminal

<400> 84

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Phe Ser Ser Ser Gly Trp Tyr Lys Gly Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
130 135 140

Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160

Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175

Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190

Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn
195 200 205

Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser
210 215 220

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Gly
450

<210> 85
<211> 448
<212> PRT
<213> HC de 3G7 (Q1E) sin la K C-terminal

<400> 85

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Val Gly Glu Trp Ile Gln Leu Trp Ser Pro Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290		295		300
Val Ser Val Leu Thr	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315		320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys				
	325	330		335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr				
	340	345		350
Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr				
	355	360		365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu				
	370	375		380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu				
385	390	395		400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys				
	405	410		415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu				
	420	425		430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly				
	435	440		445
<210> 86				
<211> 455				
<212> PRT				
<213> HC de 2C1 (Q1E) sin la K C-terminal				
<400> 86				
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala				
1	5	10		15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Glu Leu				
	20	25		30

Ser Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Phe Asp Pro Glu Asp Gly Glu Thr Ile Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Glu Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Gly Pro Leu Tyr Thr Ile Phe Gly Val Val Ile Ile Pro
100 105 110

Asp Asn Trp Phe Asp Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
130 135 140

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
145 150 155 160

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
165 170 175

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
180 185 190

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys
195 200 205

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
210 215 220

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
225 230 235 240

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
275 280 285

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
325 330 335

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450 455

<210> 87
<211> 1404
<212> ADN
<213> Secuencia de nucleótidos para la HC de 1E1 (G4)

<400> 87
atgaagcacc tgtggttctt cctgctgctg gtggctgctc ccaggtgggt gctgtccgag
60

gtgcagctgc agcagtgggg agctggcctg ctgaagccct ccgaaaccct gtccctgacc
120

tgcgctgtgt acggcggctc cttttccggc tactactgga gctggatcag gcagcctcct
180

ggcaagggcc tggaatggat cggcgagatc aaccacgccg gctccaccaa ctacaacccc
240

tccctgaagt cccgggtgac catctccgtg gacacctcca agaaccagtt ctccctgaag
300

ctgtcctccg tgacagccgc cgacacagcc gtgtactact gtgccaggct gcccaccagg
360

tgggtgacca ccaggtactt tgacctgtgg ggcaggggaa ccctgggtgac cgtgtcctcc
420

gctagcacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag
480

agcacagccg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg
540

tggaactcag ggcacctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca
600

ggactctact ccctcagcag cgtgggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc
660

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc
720

aaatatggtc ccccatgccc accatgccc aacacctgagt tcctgggggg accatcagtc
780

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgagggtcacg
840

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat
900

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac
960

cggtgtgttca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag
1020

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
1080

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag
1140

aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag
1200

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc
1260

gacggctcct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg
1320

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc
1380

ctctccctgt ctctgggtaa atga
1404

<210> 88

<211> 711

<212> ADN

<213> Secuencia de nucleótidos para la LC de 1E1 (G4)

<400> 88

atggcctgga gccctctgct gctgaccctg ctggcccact gtaccggaag ctgggccgag
60

agcgtgctga cacagcctcc tagcgtgagc ggcgtcctg gacaaagggg gaccatcagc
120

tgcaccggct cctccagcaa cattggcgcc ggctacgacg tgcactggta ccagcagctg
180

cctggcaccg cccctaagct gctgatctac ggcgactcca acaggccctc cggagtgcct
240

gacaggttct ccgtgtccaa gtccggagct tccgccagcc tggccattac cggactgcag
300

gctgaggacg aggccgacta ctactgccag tccttcgaca acagcctgag cgcctacgtg
360

ttcggcggag gcacccagct gacagtgtg ggacagccca aagccgcccc ttccgtgacc
420

ctgtttcccc cctcctccga ggagctgcag gctaacaagg ccacactggg gtgtctgac
480

agcgacttct atcccggagc cgtgaccgtc gcctggaaag ctgatagcag ccccgatgaag
540

gccggagtgg agaccaccac cccagcaag cagtccaaca acaagtacgc cgcctcctcc
600

tacctgtccc tgaccctga gcagtggaag tccacaggt cctactcctg ccaggtgacc
660

catgaggga gcacagtga gaagaccgtg gctcccaccg agtgcagctg a
711

<210> 89

<211> 327

<212> PRT

<213> IgG4 humana (S228P) dominio constante

<400> 89

Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg
1				5					10					15	

Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
			20					25					30		

Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
		35					40					45			

Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
	50					55					60				

Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr
65					70				75						80

Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
				85					90					95	

Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
			100					105					110		

Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
		115					120					125			

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130		135		140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp				
145		150		155
				160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe				
		165		170
				175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp				
		180		185
				190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu				
		195		200
				205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg				
		210		215
				220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys				
		225		230
				235
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp				
		245		250
				255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys				
		260		265
				270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser				
		275		280
				285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser				
		290		295
				300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser				
		305		310
				315
				320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys				
		325		

<210> 90
 <211> 106
 <212> PRT

<213> Dominio constante Lambda Humano

<400> 90

Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro
35 40 45

Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-2-1	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application MERCK SHARP & DOHME CORP. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-1 (iv)		an assignment from ZUNIGA, Luis, A. to MERCK SHARP & DOHME CORP., dated 23 March 2018 (23.03.2018)
VIII-2-1 (iv)		an assignment from JOYCE-SHAIKH, Barbara to MERCK SHARP & DOHME CORP., dated 23 March 2018 (23.03.2018)

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII-2-2	Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate: Name (LAST, First)	In relation to this international application AGENUS INC. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:
VIII-2-2 (iv)		an assignment from BLANUSA, Milan to Agenus Switzerland Inc., dated 18 December 2017 (18.12.2017)
VIII-2-2 (iv)		an assignment from SCHUSTER, Andrea Claudia to Agenus Switzerland Inc., dated 31 January 2018 (31.01.2018)
VIII-2-2 (iv)		an assignment from SCHULTZE, Kornelia to Agenus Switzerland Inc., dated 17 December 2017 (17.12.2017)
VIII-2-2 (iv)		an assignment from Agenus Switzerland Inc. to AGENUS INC., dated 06 February 2018 (06.02.2018)
VIII-2-2 (iv)		an assignment from Agenus Switzerland Inc. to AGENUS INC., dated 13 February 2018 (13.02.2018)

AUTORIDAD INTERNACIONAL DE BÚSQUEDA

5

Solicitante:	Merck Sharp & Dohme Corp.
Solicitud Internacional No.:	PCT/US2018/026160
Archivo de Agente No.:	24443
Presentado:	abril 5 de 2018
Para:	Anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno

ISA

Funcionario autorizado:
Ludivine Desplanque

10

PRESENTADO ELECTRÓNICAMENTE

Autoridad Internacional de Búsqueda
Oficina Europea de Patentes, P. B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk

15

**SOLICITUD DE RECTIFICACIÓN BAJO LA REGLA 91 DEL PCT DEBIDA A ERRORES
OBVIOS EN LA SOLICITUD INTERNACIONAL**

20 Señor:

Este comunicado es para solicitar la rectificación bajo la Regla 91 del PCT para hacer cambios en la descripción que parecen ser errores obvios, luego de haber recibido la sugerencia de la Oficina receptora de los Estados Unidos en un comunicado para Casos en los que no Aplica Otro Formulario (“Comunicado”) del día 15 de agosto de 2018.

25

El error a ser corregido consiste en que el texto de las páginas 23-25 y 27-34 no está en tinta negra indeleble, lo que no hace posible su reproducción, de acuerdo con la invitación a corregir los Defectos en la Solicitud Internacional (“Invitación”) enviada el día 19 de abril de 2018. EL solicitante presentó una respuesta a tal Invitación acompañada de Hojas Sustitutas el 15 de junio de 2018. Sin embargo, inadvertidamente se omitió el texto de la parte superior de la Hoja Sustituta 23; como resultado, las Hojas Sustitutas 23-25 y 27-34 no fueron aceptadas (véase el comunicado enviado el día 15 de agosto de 2018). Para corregir este error, el Solicitante presenta adjuntas nuevas Hojas Sustitutas para las páginas 23-25 y 27-34 de la descripción. La única diferencia entre estas Hojas Sustitutas y las páginas 23-25 y 27-34 originalmente presentadas de la descripción es que las secuencias allí contenidas están más oscuras, tal y como se solicitó en la Invitación.

30

35

40

Si se considera que una teleconferencia sería útil, el Solicitante invita al Funcionario Autorizado a contactar al abogado mencionado a continuación al número proporcionado bajo estas líneas. No se considera que se deba cancelar una tasa en relación con esta solicitud. Sin embargo, si se requiere el pago de alguna tasa, la Autoridad Internacional de Búsqueda está autorizada para cargar dicha tasa adicional a la Cuenta de Depósito de Merck No. 13-2755.

Atentamente,

Por /Yingying Zeng/
Yingying Zeng
Reg. No. 70,215
Abogado del Solicitante

MERCK & CO., INC.
P. O. Box 2000
Rahway, New Jersey 07065-0907
(732) 594-3377

Fecha: 28 de agosto de 2018

24443-PCT

el anticuerpo o fragmento se administra en una “cantidad eficaz” o “dosis eficaz” que aliviará uno o más síntomas (por ejemplo, de cáncer o enfermedad infecciosa) en el sujeto o población tratados, ya sea induciendo la regresión o eliminación de tales síntomas o inhibiendo la progresión de dichos(s) síntoma(s), por ejemplo, síntomas de cáncer, tales como crecimiento tumoral o metástasis, en cualquier grado clínicamente mensurable. La cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad y el peso del paciente y la capacidad del fármaco para provocar una respuesta deseada en el sujeto.

Como se usa en el presente documento, un “anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo” se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 humano.

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos expuestos en el presente documento que se unen específicamente a ILT4. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une “específicamente” a un polipéptido que comprende una secuencia dada (por ejemplo, ILT4 humano) si se une a polipéptidos que comprenden la secuencia con una K_D de aproximadamente 20 nM o una afinidad más alta (por ejemplo, de aproximadamente 17 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM, 100 pM o 1 pM), pero no se une a proteínas que carecen de la secuencia. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une específicamente a un polipéptido que comprende ILT4 humano se pueden unir a una forma etiquetada con FLAG[®] de ILT4 humano, pero no se unirá a otras proteínas etiquetadas con FLAG[®] que carecen de secuencias de ILT4.

ILT4

En un modo de realización de la invención, la secuencia de aminoácidos de ILT4 humano comprende la secuencia de aminoácidos:

MTPIVTVLIC	LGLSLGPRTH	VQTGTIPKPT	LWAEPDSVIT	QGSPVTLSCQ	GSLEAQEYRL	60
YREKKSASWI	TRIRPELVKN	GQFHIPSITW	EHTGRYGCQY	YSRARWSELS	DPLVLVMTGA	120
YPKPTLSAQP	SPVVTSGGRV	TLQCESQVAF	GGFILCKEKE	EEHPQCLNSQ	PHARGSSRAI	180
FSVGPVSPNR	RWSHRCYGYD	LNSPYVWSSP	SDLLELLVPG	VSKKPSSLVQ	PGPVVAPGES	240
LTLQCVSDVG	YDRFVLYKEG	ERDLRQLPGR	QPQAGLSQAN	FTLGPVRSY	GGQYRCYGAH	300
NLSSECSAPS	DPLDILITGQ	IRGTPFISVQ	PGPTVASGEN	VTLLCQSWRQ	FHTFLLTKAG	360
AADAPLRLRS	IHEYPKYQAE	FPMSPVTSAH	AGTYRCYGSL	NSDPYLLSHP	SEPLELVVSG	420
PSMGSSPPPT	GPISTPAGPE	DQPLTPTGSD	PQSGLGRHLG	VVIGILVAVV	LLLLLLLLLLF	480
LILRHRRQGK	HWTSTQRKAD	FQHPAGAVGP	EPTDRGLQWR	SSPAADAQEE	NLYAAVKDTQ	540
PEDGVEMDTR	AAASEAPQDV	TYAQLHSLTL	RRKATEPPPS	QEREPPAEPS	IYATLAIH	598

(SEQ ID NO: 40; secuencia señal subrayada). Véase no. de acceso a Uniprot Q8N423.

En otro modo de realización de la invención, la secuencia de aminoácido de ILT4 humano comprende la siguiente secuencia de aminoácidos dentro de la secuencia señal:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

24443-PCT

	LTLQCVSDVG	YDRFVLYKEG	ERDLRQLPGR	QPQAGLSQAN	FTLGPVSRSY	GGQYRCYGAH	279
	NLSSECSAPS	DPLDILITGQ	IRGTPFISVQ	PGPTVASGEN	VTLLCQSWRQ	FHTFLLTKAG	339
5	AADAPLRLRS	IHEYPKYQAE	FPMSPVTSAH	AGTYRCYGSL	NSDPYLLSHP	SEPLELVVSG	399
	PSMGSSPPPT	GPISTPAGPE	DQPLTPTGSD	PQSGLGRLHG	VVIGILVAVV	LLLLLLLLLLF	459
	LILRHRQGK	HWTSTQRKAD	FQHPAGAVGP	EPTDRGLQWR	SSPAADAQEE	NLYAAVKDTQ	519
	PEDGVEMDTR	AAASEAPQDV	TYAQLHSLTL	RRKATEPPPS	QEREPPAEPS	IYATLAIH	577

(SEQ ID NO: 78).

10 En un modo de realización de la invención, la secuencia de aminoácidos de ILT4 de macaco cangrejero comprende la secuencia de aminoácidos:

	MTPILMVLIC	LGLSLGPRTH	VQAGILPKPT	LWAEPGSVIS	EGSPVTLRCQ	GSLQVQEYHL	60
	YREKNPASWV	RQIRQELVKK	GYFAIGFITW	EHTGQYRCQY	YSHSWWSEPS	DPLELVVTGA	120
	YSKPTLSALP	SPVVASGGNV	TLQCDSQVAF	DSFTLCKEGE	DEHPQRLNCQ	SHARGWSWAV	180
15	FSVGPVSPSR	RWSYRCYGYI	SSAPNVWSLP	SDLLELLVPG	VSKKPSLSVQ	PGPVVAPGDK	240
	LTLQCGSDAG	YDRFALYKEG	EGDFLQRPVR	QPQAGLSQAN	FLLGPVSRSH	GGQYRCSGAH	300
	NLSSEWSAPS	DPLDILIAGQ	IRGRPFLSVQ	PGPKVVSGEN	VTLLCQSSWQ	FHAFLLTQAG	360
	AADAHHLHRS	MYKYPKYQAE	FPMSPVTSAH	AGTYRCYGSR	SSNPYLLSVP	SDPLELVVSG	420
	PSGGPSSPTT	GPTSTCGPED	QPLTPTGSAP	QSGLGRLHGV	VTGVLVAFVL	LLFLLLLLLFL	480
20	VLRYRRQGKR	WTSQRKADF	QHPAGAVEPE	PRDRGLQRRS	SPAADTQEEN	LYAAVKDTQP	540
	EDGVELDSRA	AASEDPQDVT	YAQLQSLTLR	REATEPPPSQ	ERAPPVESSI	YATLTIH	597

(SEQ ID NO: 43; secuencia señal subrayada). Véase NCBI refseq XP_005590753.

En un modo de realización de la invención, la secuencia señal para la expresión de ILT4 o cualquier otro polipéptido expuesto en el presente documento es

25 MTPILMVLICLGLSLGPRTHV (aminoácidos 1-21 de la SEQ ID NO: 40) o
MTPIVTVLICLGLSLGPRTHV (aminoácidos 1-21 de la SEQ ID NO: 43) o MPLLLLLPLLWAGALA
(SEQ ID NO: 46).

En un modo de realización de la invención, un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención se une al dominio extracelular de
30 ILT4:

QTGTIPKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYY
SRARWSELSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEEHHPQCLNSQPHARGSSRAIF
SVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGE
RDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENV
35 TLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVSGP
SMGSSPPPTGPISTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRLHGV

(aminoácidos 22-461 de la SEQ ID NO: 40) o una fusión de inmunoglobulinas del mismo
(por ejemplo, IgG1 o IgG4) o una forma transmembranaria (TM) de superficie celular que
se expresa en la superficie de una célula:

40 QTGTIPKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYY
SRARWSELSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEEHHPQCLNSQPHARGSSRAIF
SVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGE
RDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPLDILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENV
TLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGSLNSDPYL

24443-PCT

LSHPSEPLELVVSGPSMGSSPPPTGP ISTPAGPEDQPLTPTGSDPQSG LGRHLGVVIGILVAVVLLLLLLLLL
FLILRHRRQGKH

5 (aminoácidos 22-491 de la SEQ ID NO: 40).

Anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno

La presente invención proporciona anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos) que se unen a ILT4 (denominados en el presente documento “anti-ILT4”) y procedimientos de uso de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos en el tratamiento o la prevención de enfermedades. En un modo de realización, la invención proporciona anticuerpos anti-ILT4 antagonistas y procedimientos de uso de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos en el tratamiento o la prevención de enfermedades.

En un aspecto, la presente solicitud incluye anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos como se expone en el presente documento que tienen una o más de las propiedades expuestas a continuación:

- se une a ILT4 humano en uno o más residuos de aminoácido en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59) y/o TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y/o HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62), y/o protege a LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59) y TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y/o HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62) del intercambio de deuterio (por ejemplo, D₂O), por ejemplo, como se determina mediante espectrometría de masas de intercambio hidrógeno-deuterio y/o se une a ILT4 con un mapa de calor esencialmente como se muestra en la **figura 1**;
- se une a ILT4 humano en el dominio 1 (véase Wilcox *et al.* BMC Structural Biology 2:6 (2002));
- se une al dominio extracelular de ILT4 humano o forma TM de ILT4 expresada en una superficie celular, por ejemplo, un prelinfocito B, célula de ovario de hámster chino, célula U937 o célula Jurkat JE6.
- pI calculado ~ 7,29 (por ejemplo, 7,29 o 7,30);
- pI determinado experimentalmente ~ 7,2;
- se caracteriza por un termograma que tiene una Tf de inicio > 60 °C, Tf1 ~ 65,2 °C y Tf2 ~ 78,8 °C;
- se une a ILT4 humano con una K_D de aproximadamente 1,7 X 10⁻⁸ M (por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, la unión de anti-ILT4 a ILT4 humano etiquetado con polihistidina);
- Ka = 5,5 X 10⁵ M⁻¹ s⁻¹ (por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, la unión de anti-ILT4 a ILT4 humano etiquetado con polihistidina);
- Kd=9X10⁻³ s⁻¹ (por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, la unión de anti-ILT4 a ILT4 humano etiquetado con polihistidina);
- bloquea la unión de HLA-G (por ejemplo, HLA-G fusionado a Fc) a ILT4 humano (por ejemplo, ILT4 en linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con y que expresan ILT4), por ejemplo, con una CI₅₀ de aproximadamente 0,25 microgramos/ml

24443-PCT

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 1E1 (Q1E)

5 Cadena pesada
EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYTCNVDHKPSNTKVDKRV
ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
10 REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSLGK
(SEQ ID NO: 1; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
Dominio variable de cadena pesada
15 EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLWGRGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 63)

Cadena pesada de anticuerpo 1E1 (Q1E, S54A) (IgG4)

20 Cadena pesada
EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHAGSTNYPNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTITYTCNVDHKPSNTKVDKRV
ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKP
25 REEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT
QKSLSLSLGK
(SEQ ID NO: 2; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
Dominio variable de cadena pesada
30 EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHAGSTNYPNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLWGRGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 57)

Cadena pesada (IgG1) de anticuerpo 1E1

35 Cadena pesada
QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
40 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 44; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

24443-PCT

Dominio variable de cadena pesada

5 QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDT
SKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLWGRGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 69)

CDRs de cadena pesada de 1E1

10 CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16)
CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKs en la que X es S o A (por ejemplo,
EINHSGSTNYPNPSLKs o EINHAGSTNYPNPSLKs) (SEQ ID NO: 17)
CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18)

15 Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E)

Cadena ligera
ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

20 (SEQ ID NO: 3; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera
ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 70)

25 Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, S54A)

Cadena ligera
ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
30 GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 4; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera
ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
35 (SEQ ID NO: 71)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, N53Q)

Cadena ligera

40

24443-PCT

5 ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
(SEQ ID NO: 5; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
Dominio variable de cadena ligera
10 ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 72)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, N53E)

Cadena ligera
15 ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGESNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
(SEQ ID NO: 6; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
Dominio variable de cadena ligera
20 ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGESNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 73)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, N53D)

25 Cadena ligera
ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGDSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
(SEQ ID NO: 7; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
30 Dominio variable de cadena ligera
ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGDSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 58)

35 Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1

Cadena ligera
QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNLSAYVFGGGTQLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYP
GAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
40 (SEQ ID NO: 45; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
Dominio variable de cadena ligera

24443-PCT

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSVSKSGASA
5 SLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL

(SEQ ID NO: 77)

CDRs de cadena ligera de 1E1

CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19)

10 CDR-L2: GX₁X₂NRPS; en la que X₁ es N, Q, E o D y X₂ es S o A (por ejemplo, GNSNRPS, GNANRPS, GQSNRPS, GESNRPS o GDSNRPS) (SEQ ID NO: 20)

CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las CDR de las cadenas pesada y ligera de 1E1 o las V_H y V_L de 1E1 o la cadena pesada y la
15 cadena ligera de 1E1 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el presente documento) se pueden denominar “1E1”.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2A6 (Q1E)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITAD
20 ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDSSGWYKGGAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVD
KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
25 HYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 8; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDSSGWYKGGAFDIWGQGTMTVSS

30 (SEQ ID NO: 64)

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2A6 (Q1E, S102A, M119L)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITAD
35 ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDASGWYKGGAFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPKPSNTKVD
KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
40 HYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 9; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

24443-PCT

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDASGWYKGGAFDIWGQGTLLTVSS

5 (SEQ ID NO: 65)

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2A6 (Q1E, D101S, M119L)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFSSSGWYKGGAFDIWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSEST
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVD
KRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKKVSNNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 10; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITAD
ESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFSSSGWYKGGAFDIWGQGTLLTVSS

(SEQ ID NO: 66)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno del mismo en los que el residuo 1 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 64, 65 o 66 es Q en lugar de E.

CDRs de cadena pesada de 2A6

CDR-H1: SYAIS (SEQ ID NO: 22)

CDR-H2: GIIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 23)

CDR-H3: YFX₁X₂SGWYKGGAFDI; en la que X₁ es D o S y X₂ es S o A (por ejemplo, YFDSSGWYKGGAFDI, YFDASGWYKGGAFDI o YFSSSGWYKGGAFDI) (SEQ ID NO: 24)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 2A6

Cadena ligera

QSVLTQPSLLSASPGASASLTCTLRSGINVDTYRIHWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKHQSGVPSRFSGSKD
PSANAGILLISGLQSEDEADYYCAIWYSSTWVFGGGTQLTLVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS
DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTE
CS

(SEQ ID NO: 11; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

QSVLTQPSLLSASPGASASLTCTLRSGINVDTYRIHWYQQKPGSPPQYLLRYKSDSDKHQSGVPSRFSGSKD
PSANAGILLISGLQSEDEADYYCAIWYSSTWVFGGGTQLTLVL

(SEQ ID NO: 74)

24443-PCT

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno del mismo en los que el residuo 1 de SEQ ID NO: 11 o 74 es E en lugar de Q.

CDRs de cadena ligera de 2A6

CDR-L1: TLRSGINVDTYRIH (SEQ ID NO: 25)

CDR-L2: YKSDSDKHQGS (SEQ ID NO: 26)

CDR-L3: AIWYSSTWV (SEQ ID NO: 27)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las CDR de las cadenas pesada y ligera de 2A6 o las V_H y V_L de 2A6 o la cadena pesada y la cadena ligera de 2A6 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el presente documento) se pueden denominar “2A6”.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 3G7 (Q1E)

Cadena pesada

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGEWIQLWSPFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQKTYTCNVDPKPSNTKVDKR
VESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV
SLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNY
TQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 12; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente).

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGEWIQLWSPFDYWGQGTLLVTVSS

(SEQ ID NO: 67)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos en los que el residuo 1 de la SEQ ID NO: 12 o 67 es Q en lugar de E.

CDRs de cadena pesada de 3G7

CDR-H1: SYAMH (SEQ ID NO: 28)

CDR-H2: VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 29)

CDR-H3: VGEWIQLWSPFDY (SEQ ID NO: 30)

Cadena ligera (kappa) de anticuerpo 3G7

Cadena ligera

24443-PCT

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTL
5 TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGGGTKVEIKRtVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV
QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 13; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFTL
10 TISSLQPEDFATYYCQQYNSYPPTFGGGTKVEIK

(SEQ ID NO: 75)

CDRs de cadena ligera de 3G7

CDR-L1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 31)

15 CDR-L2: AASSLQS (SEQ ID NO: 32)

CDR-L3: QQYNSYPPT (SEQ ID NO: 33)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las
CDR de las cadenas pesada y ligera de 3G7 o las V_H y V_L de 3G7 o la cadena pesada y la
20 cadena ligera de 3G7 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el
presente documento) se pueden denominar “3G7”.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2C1 (Q1E)

Cadena pesada

25 EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTED
TSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARAGPLYTIFGVV IIPDNWFDPWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRS
TSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTKTYTCNV DHKPS
NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE
30 EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH
EALHNHYTQKSLSLGLGK

(SEQ ID NO: 14; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTED
35 TSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARAGPLYTIFGVV IIPDNWFDPWGQGT LVTVSS

(SEQ ID NO: 68)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los
mismos en los que el residuo 1 de la SEQ ID NO: 14 o 68 es Q en lugar de E.

CDRs de cadena pesada de 2C1

CDR-H1: ELSMH (SEQ ID NO: 34)

CDR-H2: GFDPEDGETIYAQKFQG (SEQ ID NO: 35)

CDR-H3: AGPLYTIFGVV IIPDNWFDP (SEQ ID NO: 36)

24443-PCT

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 2C1 (Q1E)

- 5 Cadena ligera
- ESVLTQPPSVSGAPGQ~~RV~~TISCTGSSSNIGAGYDVH~~WY~~QQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSA
SLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSGVVF~~GGTQ~~LIILGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF
YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
- (SEQ ID NO: 15; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)
- 10 Dominio variable de cadena ligera
- ESVLTQPPSVSGAPGQ~~RV~~TISCTGSSSNIGAGYDVH~~WY~~QQLPGTAPKLLIYGNSNRPSGVPDRFSGSKSGTSA
SLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSGVVF~~GGTQ~~LIIL
- (SEQ ID NO: 76)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los
15 mismos en los que el residuo 1 de la SEQ ID NO: 15 o 76 es Q en lugar de E.

CDRs de cadena ligera de 2C1

- CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 37)
- CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 38)
- 20 CDR-L3: QSYDSSLSGSGVV (SEQ ID NO: 39)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las
CDR de las cadenas pesada y ligera de 2C1 o las V_H y V_L de 2C1 o la cadena pesada y la
cadena ligera de 2C1 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el
presente documento) se pueden denominar “2C1”.

25 En varios modos de realización del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del
mismo, una lisina C-terminal de una inmunoglobulina de cadena pesada está ausente.

Por lo tanto, en algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a
antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una
30 inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y
pesada, en el que la inmunoglobulina de cadena ligera comprende la secuencia de
aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6 ,7, 11, 13, 15 o 45; y/o la inmunoglobulina
de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2,
8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 o 86.

35 En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a
antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende
la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 o 79; y una inmunoglobulina de
cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3.

40

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 24443	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2018/026160	International filing date (<i>day/month/year</i>) 5 April 2018 (05-04-2018)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 7 April 2017 (07-04-2017)
Applicant MERCK SHARP & DOHME CORP.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. 17

- ☒ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2018/026160

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/28 A61P35/00 A61K39/395
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/164519 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]) 9 October 2014 (2014-10-09) page 46, line 12 page 2, line 36 - page 3, line 1 claim 10	1-10, 22-37
X	WO 2015/179633 A1 (HUTCHINSON FRED CANCER RES [US]; UNIV TEXAS [US]) 26 November 2015 (2015-11-26) paragraph [0143]; example 1 paragraph [0167] page 53, paragraph 144 paragraph [0198] - paragraph [0201]; example 3 ----- -/--	1-10, 22-37



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 July 2018

Date of mailing of the international search report

02/08/2018

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Irion, Andrea

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2018/026160

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	M. DENG ET AL: "A motif in LILRB2 critical for Angptl2 binding and activation", BLOOD, vol. 124, no. 6, 7 August 2014 (2014-08-07), pages 924-935, XP055204710, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2014-01-549162 abstract page 927, paragraph 5 - page 928, paragraph 2 page 925, left-hand column, paragraph 3 page 934, right-hand column, paragraph 3 -----	1-10, 22-37
X	WO 2016/144728 A2 (UNIV TEXAS [US]) 15 September 2016 (2016-09-15) page 69, line 7 - line 22; example 1 figure 19 -----	1-42
X	WU CHING-LIEN ET AL: "Multiplex bead-based immunoassay for the free soluble forms of the HLA-G receptors, ILT2 and ILT4", HUMAN IMMUNOLOGY, NEW YORK, NY, US, vol. 77, no. 9, 10 February 2016 (2016-02-10), pages 720-726, XP029703269, ISSN: 0198-8859, DOI: 10.1016/J.HUMIMM.2016.01.017 page 721, right-hand column, paragraph 1 -----	1-10, 22-37
X	WO 2016/111947 A2 (JOUNCE THERAPEUTICS INC [US]) 14 July 2016 (2016-07-14) page 106, paragraph 324 -----	1-10, 22-37

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/026160

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014164519 A1	09-10-2014	EP 2970373 A1 US 2016009782 A1 WO 2014164519 A1	20-01-2016 14-01-2016 09-10-2014
WO 2015179633 A1	26-11-2015	AU 2015264120 A1 CA 2948871 A1 EP 3146041 A1 JP 2017517259 A KR 20170007449 A US 2017260508 A1 WO 2015179633 A1	24-11-2016 26-11-2015 29-03-2017 29-06-2017 18-01-2017 14-09-2017 26-11-2015
WO 2016144728 A2	15-09-2016	AU 2016229201 A1 CA 2977544 A1 CN 107530402 A EP 3265113 A2 JP 2018510340 A KR 20170123323 A US 2018086829 A1 WO 2016144728 A2	14-09-2017 15-09-2016 02-01-2018 10-01-2018 12-04-2018 07-11-2017 29-03-2018 15-09-2016
WO 2016111947 A2	14-07-2016	US 2016200815 A1 WO 2016111947 A2	14-07-2016 14-07-2016

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To: see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference see form PCT/ISA/220		FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below
International application No. PCT/US2018/026160	International filing date (day/month/year) 05.04.2018	Priority date (day/month/year) 07.04.2017
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC INV. C07K16/28 A61P35/00 A61K39/395		
Applicant MERCK SHARP & DOHME CORP.		

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	Date of completion of this opinion see form PCT/ISA/210	Authorized Officer Irion, Andrea Telephone No. +49 89 2399-0
--	--	--



Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed.
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing:
 - a. ☐ forming part of the international application as filed:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>11-21, 38-42</u>
	No: Claims	<u>1-10, 22-37</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-42</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-42</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

The application discloses the anti-LILRB2 antibody designated 1E1 binding a non-linear conformational epitope comprising three beta-strands and a loop (Figure 2A), wherein the epitope bound by 1E1 overlaps with the site 2 epitope bound by the HLA-G ligand (see Example 1 of the application). Furthermore, anti-LILRB2 antibodies designated 1G2, 2A6, 2D5, 3E6, 3G7, 2C1, and 5A6 are disclosed which have specific characteristics (e.g. bind cynoILT4, block HLA-G Fc ligand binding to ILT4, rescue of spontaneous IL2 suppression and of HLA-G dependent suppression). The application does not disclose the epitope bound by the antibodies other than 1E1.

Item V

V.1 Reference is made to the following documents:

- D1 WO 2014/164519 A1 (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR [US]) 9 October 2014 (2014-10-09)
- D2 WO 2015/179633 A1 (HUTCHINSON FRED CANCER RES [US]; UNIV TEXAS [US]) 26 November 2015 (2015-11-26)
- D3 M. DENG ET AL: "A motif in LILRB2 critical for Angptl2 binding and activation", BLOOD, Blood, vol. 124, no. 6, 7 August 2014 (2014-08-07), pages 924-935, XP055204710
- D4 WO 2016/144728 A2 (UNIV TEXAS [US]) 15 September 2016 (2016-09-15)
- D5 WU CHING-LIEN ET AL: "Multiplex bead-based immunoassay for the free soluble forms of the HLA-G receptors, ILT2 and ILT4", HUMAN IMMUNOLOGY, vol. 77, no. 9, 10 February 2016 (2016-02-10), pages 720-726, XP029703269
- D6 WO 2016/111947 A2 (JOUNCE THERAPEUTICS INC [US]) 14 July 2016 (2016-07-14)

V.2 Novelty (Article 33(2) PCT)

V.2.1 Prior art documents

Document D1 describes the polyclonal anti-LILRB2 antibody #AF2078 from R&D systems (p. 46 l. 12). An antibody binding to amino acid residues within the first and second Ig-like domain of Pir2 or LILRB2 is disclosed (p. 2 l. 36 - p. 3 l. 1, claim 10).

Document D2 describes that immobilized anti-LILRB2 antibodies induce a more potent activation of LILRB2 than Angptl2 (Example 1 paragraph [143]) and support ex vivo expansion of human CB HSC (paragraph [167]). Anti-LILRB2 polyclonal antibody (pAb, #BAF2078, R&D systems) and anti-LILRB2 monoclonal antibody

(mAb, #16-5149-85, eBioscience) were used (p. 53 paragraph [144]). See also Example 3 paragraphs [198]-[201]. D2 discloses the structure of the extracellular domain of LILRB2:

Ig1 aa24-119, Ig2 aa 120-219, Ig3 aa 221-320, Ig4 aa 321-458.

Document D3 describes that immobilized anti-LILRB2 antibodies induces a more potent activation than Angptl2 and support expansion of human cord blood HSCs (abstract, p. 927 right-hand col. 5th paragraph - p. 928 right-hand col. 2nd paragraph). Anti-LILRB2 polyclonal antibody (pAb, #BAF2078, R&D systems) and anti-LILRB2 monoclonal antibody (mAb, #16-5149-85, eBioscience (42D1, a monoclonal rat antibody)) were used (p. 925 left-hand col. 3rd paragraph). D3 reports that a motif in the first and the fourth Ig domains of LILRB2 is critical to the Angptl2 binding (abstract). D3 states that

Immobilized antibodies bind to the same region of LILRB2 as Angptl2. (p. 934 right-hand col. 3rd paragraph).

Document D4 describes anti-LILRB2 antibodies designated C84, C201, C39, C193, C290, C102, and C287 having anti-leukemia effects in xenograft models (Example 1 p. 69 l. 7-22, Figure 19).

Document D5 describes the anti-ILT4 antibody 27D6 (eBioscience), clone 287219 (R&D systems) and antibody CD85d-PE clone 42D1 (Beckman Coulter) (p. 721 right-hand col. 1st paragraph).

Document D6 describes anti-LILRB2 antibodies 287219 mAb (R&D systems, AF2078) which blocks TIM-3:LILRB2 interaction. mAb 42D1 clone (BioLegend, 338704) binds human LILRB2 but does not block said interaction (paragraph [324] p. 106).

V.2.2 With respect to claims 1-10, 22-37

The antibodies of D1-D6 bind the extracellular domain of ILT4 (LILRB2). It is not known from these documents whether said antibodies bind the epitope defined in claims 1-5. In the absence of any evidence/proof to the contrary, it has to be assumed that the antibodies of D1-D6 fall under the scope of claims 1-10. Therefore, claims 1-10 and 22-37 are not considered novel in the sense of Article 33(2) PCT.

V.2.3 With respect to claims 11-21, and 38-42

None of the documents cited describes the antibodies defined in claims 11-21 and 38-42. Therefore, the subject-matter of claims 11-21 and 38-42 is considered novel in the sense of Article 33(2) PCT.

V.3 Inventive step (Article 33(3) PCT)

V.3.1 With respect to claims 11-21 and 38-42

The subject-matter of claims 11-21 and 38-42 differs from the closest prior art document D4 in the sequence of the anti-TLR4 antibodies. The technical effect based on said difference is not apparent from the application, since comparative data are missing. Therefore, the technical problem to be solved may be regarded as providing alternative or further anti-ILT4 antibodies.

The solution proposed in claims 11-21 and 38-42 of the present application cannot be considered involving an inventive step in the sense of Article 33(3) PCT for the following reasons:

Given the fact that methods to obtain monoclonal antibodies directed against any antigen (such as ILT4) and to screen such antibodies in order to select antibodies showing a desired property, e.g. blocking the interaction of ILT4 and HLA-G, are routine in the art, the skilled person would consider obvious producing further anti-ILT4 antibodies to solve the technical problem posed. In order to do so, the skilled person would only apply standard techniques. An inventive step could only be acknowledged if the antibodies would show unexpected properties.

Dependent claims do not contain any features which, in combination with the features of any claim to which they refer, meet the requirements of the PCT in respect of inventive step.

Hence the subject-matter of claims 11-21 and 38-42 is not considered inventive in the sense of Article 33(3) PCT.

V.4 Industrial applicability

V.4.1 With respect to claims 1-42

The subject-matter of claims 1-42 appears to be susceptible of industrial application.

V.5 Further remarks

V.5.1 With respect to claims 29-31, and 36

The subject-matter of claims 29-31, and 36 is considered to be a method of treatment by therapy of the human or animal body.

For the assessment of the present claims 29-31, and 36 on the question whether they are patentable, no unified criteria exist in the PCT Contracting States. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

Patentability, in particular novelty and inventive step, of claims 29-31, and 36 has been assessed on the basis of a purpose-limited product claim taking into account the alleged effects of the compound/composition.

V.5.2 With respect to claims 1-5

The application as originally filed states that

The term "epitope", as used herein, refers to an area or region on an antigen to which an antibody or antigen-binding fragment binds. Binding of an antibody or antigen-binding fragment thereof disclosed herein to an epitope means that the antibody or antigen-binding fragment thereof binds to one or more amino acid residues within the epitope. (p. 21 l. 2-5)

Furthermore, Example 1 discloses that

ILT4 residues LYRSKKSASW (39 - 48 of ILT4 without signal sequence) (SEQ ID NO:59) and TRIRPEL (50 - 56 of ILT4 without signal sequence) (SEQ ID NO:60) and to less extent NGQF (59-62 of ILT4 without signal sequence) (SEQ ID NO:61) and HTGRYGCQ (71-78 of ILT4 without signal sequence) (SEQ ID NO:62) were identified as showing the largest difference in deuterium labeling compared to an antigen-only sample, indicating they are likely the residues interacting with p1E1(G1) (Figure 1). These peptides are on domain 1 of ILT4. Other peptides on domain 1 and 2 that showed less deuterium labeling differences are likely protected due to conformational stability upon antibody binding. No significant differences in labeling were seen in domains 3 and 4.

When mapped onto the crystal structure of human ILT4, the residues protected by p1E1(G4) are forming non-linear conformational epitope comprising three beta-strands and a loop (Figure 2A). (p. 82 l. 6-17)

Therefore, it appears that the epitope of 1E1 is not merely one of the amino acid regions claimed in claims 1-5.



(51) International Patent Classification:

C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2018/026160

(22) International Filing Date:

05 April 2018 (05.04.2018)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

62/483,019 07 April 2017 (07.04.2017) US

(71) Applicants: **MERCK SHARP & DOHME CORP.**

[US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907 (US). **AGENUS INC.** [US/US]; 3 Forbes Road, Lexington, Massachusetts 02421 (US).

(72) Inventors; and

(71) Applicants (*for US only*): **ZUNIGA, Luis, A.** [US/US]; 901 S. California Avenue, Palo Alto, California 94304 (US). **JOYCE-SHAIKH, Barbara** [US/US]; 901 S. California

Avenue, Rahway, New Jersey 94304 (US). **BLANUSA, Milan** [RS/US]; 3 Forbes Road, Lexington, Massachusetts 02421 (US). **SCHUSTER, Andrea Claudia** [DE/US]; 3 Forbes Road, Lexington, Massachusetts 02421 (US). **SCHULTZE, Kornelia** [DE/US]; 3 Forbes Road, Lexington, Massachusetts 02421 (US).

(74) Common Representative: **MERCK SHARP & DOHME**

CORP.; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907 (US).

(81) Designated States (*unless otherwise indicated, for every*

kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(54) Title: ANTI-ILT4 ANTIBODIES AND ANTIGEN-BINDING FRAGMENTS

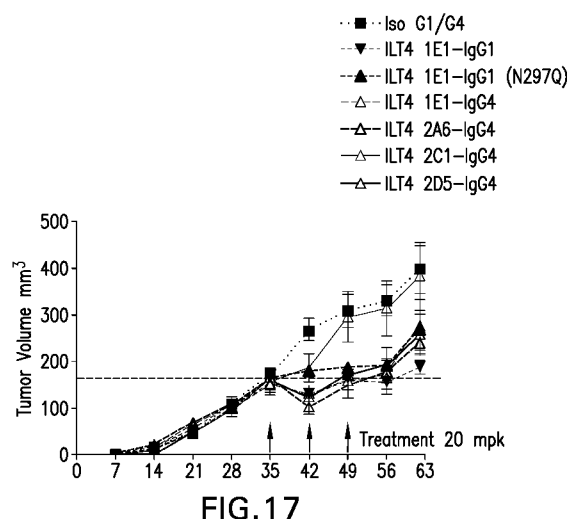


FIG. 17

(57) **Abstract:** The present invention provides antibodies and antigen-binding fragments thereof that bind to ILT4 (immunoglobulin-like transcript 4) and combinations thereof, *e.g.*, with an anti-PD1 antibody. Also provided are methods of use thereof, for example, for treating or preventing cancer in a subject; and methods of making such antibodies and fragments.



(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))*
- *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))*

Published:

- *with international search report (Art. 21(3))*
- *before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))*
- *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

Anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno

Referencia Cruzada a Aplicaciones Relacionadas

Esta aplicación reclama el beneficio de prioridad para la aplicación provisional en Estados Unidos No. 62/483,019 radicada el 7 de Abril de 2017, cuya divulgación se incorpora aquí en su totalidad.

Campo de la invención

La presente invención se refiere a anticuerpos y a fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen al transcrito de tipo inmunoglobulina 4 (ILT4), así como a procedimientos de preparación y uso de dichos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno, por ejemplo, para tratar enfermedades, tales como cáncer.

Antecedentes de la invención

Una estrategia común usada por las células tumorales para eludir la respuesta inmunitaria innata y adaptativa se asocia con la expresión anómala de antígeno leucocitario humano (HLA)-G (Curigliano *et al.* Clin Cancer Res. 2013 y Gonzalez *et al.* Crit Rev Clin Lab Sci. 2012). HLA-G puede inhibir directamente la función de las células inmunitarias a través de unión al receptor y/o a través de trogocitosis y alteración de la quimiotaxia (Morandi *et al.* Cytokine Growth Factor Review. 2014 y Lin *et al.* Mol Med. 2015). Su expresión alta en múltiples tipos de tumores, incluyendo, por ejemplo, cáncer colorrectal, pancreático, endometrial, de pulmón, de mama, de ovario y gástrico, se asocia con un estadio avanzado de la enfermedad, invasión tumoral, capacidad metastatizante y un pronóstico desfavorable (Lin *et al.* Mol Med. 2015. y Loumange *et al.* Int J Cancer. 2014). El bloqueo mediado por anticuerpos de la función de HLA-G en modelos de ratones transgénicos ha demostrado que inhibe el desarrollo tumoral y bloquea la expansión de las células supresoras de origen mieloide (MDSC) (Loumange *et al.* Int J Cancer. 2014., Lin *et al.* Hum Immunol. 2013., y Agaoglu *et al.* Blood. 2011). La unión de HLA-G a ILT4 puede inhibir directamente la función de los monocitos, las células dendríticas y los neutrófilos, alterando, de esta manera, la respuesta inmunitaria antitumoral innata. La interacción entre HLA-G y los monocitos debida a ILT4 inhibe la maduración de las células presentadoras de antígeno (CPA) derivadas de monocitos humanos, dando como resultado una expresión reducida de los antígenos para el CPH de clase II y moléculas coestimuladoras a través de la activación de Stat3 (Colonna *et al.* J Immunol. 1998; Allan *et al.* J Exp Med. 1999 y Liang *et al.* Proc Natl Sci USA. 2008). Usando células dendríticas (CD) derivadas de monocitos humanos y ratones transgénicos con ILT4, se demostró que HLA-G induce el desarrollo de CPA tolerógenas con detención de la maduración/activación de las CD mieloides la inducción de tolerógenas por HLA-G se

hacía al perturbar la vía de presentación por el CPH de clase II (Ristich *et al.* Eur J Immunol. 2005).

Existe una necesidad médica no satisfecha para los pacientes que no responden al tratamiento con linfocitos T, pero se pueden beneficiar de la ayuda de la tolerancia tumoral mediada por macrófagos asociados a tumores/ MDSC (por ejemplo, tumores “ricos” en mielocitos). El bloqueo de ILT4 cubre esta necesidad y se diferencia de los anticuerpos que seleccionan como diana linfocitos T actuales (por ejemplo, anti-PD1, anti-TIGIT), ayudando a la supresión de las células mieloides tolerógenas en el microambiente tumoral.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona anticuerpos o fragmentos de unión a antígenos de los mismos que se unen a ILT4 humano. En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en un epítipo de ILT4 humano seleccionado del grupo que consiste en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59), TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62). En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo protege al epítipo del intercambio de deuterio con una fuente de deuterio, como D₂O. En una modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59). En otro modo de realización, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo TRIRPEL (SEQ ID NO: 60). En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo (SEQ ID NO: 61). En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62). En aún otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en dos, tres o cuatro epítipos de ILT4 seleccionados del grupo que consiste en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59), TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62). En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59) y protege al epítipo del intercambio de deuterio con una fuente de deuterio como D₂O. En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo NGQF (SEQ ID NO: 61) y protege al epítipo del intercambio de deuterio con una fuente de deuterio como D₂O. En aún otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítipo HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62) y protege al epítipo del intercambio de deuterio con una fuente de deuterio como D₂O. En aún otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en dos, tres o cuatro epítipos de ILT4

seleccionados del grupo que consiste en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59), TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62) y protege a los epítomos del intercambio de deuterio con una fuente de deuterio como D₂O.

La presente invención también proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une al mismo epítopo de ILT4 humano como cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento. En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une al mismo epítopo de ILT4 humano como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y cadena ligera expuestas en las SEQ ID NO: 1 y 3; 2 y 4; 2 y 5; 2 y 6; 2 y 7; 2 y 3; 8 y 11; 9 y 11; 10 y 11; 12 y 13; 14 y 15; 79 y 3; 80 y 4; 80 y 5; 80 y 6; 80 y 7; 80 y 3; 82 y 11; 83 y 11; 84 y 11; 85 y 13; y 86 y 15, respectivamente. En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítopo de ILT4 humano como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada y de dominio variable de cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 63 y 70; 57 y 71; 57 y 72; 57 y 73; 57 y 58; 57 y 70; 64 y 74; 65 y 74; 66 y 74; 67 y 75; 68 y 76, respectivamente.

La presente invención proporciona además un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que compite por la unión a ILT4 humano con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento. En determinados modos de realización, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que compite por la unión a ILT4 humano con un anticuerpo o fragmento que comprende las secuencias de aminoácidos de cadena pesada y cadena ligera expuestas en las SEQ ID NO: 1 y 3; 2 y 4; 2 y 5; 2 y 6; 2 y 7; 2 y 3; 8 y 11; 9 y 11; 10 y 11; 12 y 13; 14 y 15; 79 y 3; 80 y 4; 80 y 5; 80 y 6; 80 y 7; 80 y 3; 82 y 11; 83 y 11; 84 y 11; 85 y 13; and 86 y 15, respectivamente. En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compite por la unión a ILT4 humano con un anticuerpo o fragmento que comprende las secuencias de aminoácidos de dominio variable de cadena pesada y de dominio variable de cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 63 y 70; 57 y 71; 57 y 72; 57 y 73; 57 y 58; 57 y 70; 64 y 74; 65 y 74; 66 y 74; 67 y 75; 68 y 76, respectivamente.

Además, la presente invención proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 humano que comprende: (a) la región determinante de la complementariedad L1 (CDR-L1), la región determinante de la complementariedad L2 (CDR-L2) y la región determinante de la complementariedad (CDR-L3) de un dominio variable de cadena ligera (V_L) de una cadena de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3-7, 11, 13, 15 o 45; y/o (b) la región determinante de la complementariedad H1 (CDR-H1), la región determinante de la complementariedad H2 (CDR-H2) y la región determinante de la complementariedad H3 (CDR-H3) de un dominio variable de cadena pesada (V_H) de una cadena de

inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1, 2, 8-10, 12, 14, 44 o 79-86.

En un modo de realización de la invención, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: (1) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS, en la que X es S o A (SEQ ID NO: 17); y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o, un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GX_1X_2 NRPS; en la que X_1 es S o A y X_2 es N, Q, E o D (SEQ ID NO: 20); y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21); (2) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: SYAIS (SEQ ID NO: 22); CDR-H2: GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 23); y CDR-H3: YFX_1X_2 SGWYKGGAFDI; en la que X_1 es D o S y X_2 es S o A (SEQ ID NO: 24); y/o, un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TLRSGINVDTYRIH (SEQ ID NO: 25); CDR-L2: YKSDSDKHQGS (SEQ ID NO: 26); y CDR-L3: AIWYSSTWV (SEQ ID NO: 27); (3) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: SYAMH (SEQ ID NO: 28); CDR-H2: VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 29); y CDR-H3: VGEWIQLWSPFDY (SEQ ID NO: 30); y/o, un dominio V_L que comprende: CDR-L1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 31); CDR-L2: AASSLQS (SEQ ID NO: 32); y CDR-L3: QQYNSYPPT (SEQ ID NO: 33); y/o (4) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: ELSMH (SEQ ID NO: 34); CDR-H2: GFDPEDGETIYAQKFQG (SEQ ID NO: 35); y CDR-H3: AGPLYTIFGVVIIPDNWFDP (SEQ ID NO: 36); y/o, un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 37); CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 38); y CDR-L3: QSYDSSLGSGVV (SEQ ID NO: 39).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS (SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS (SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS (SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS (SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS (SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS (SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS (SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH

(SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS(SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS(SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS(SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS(SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS(SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS(SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS(SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una

inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en la que la inmunoglobulina de cadena ligera tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % con la secuencia de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45, y/o la inmunoglobulina de cadena pesada tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en la que la inmunoglobulina de cadena ligera comprende un dominio variable de cadena ligera que tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % con la secuencia de aminoácidos expuestas en SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77, y/o la inmunoglobulina de cadena pesada comprende un dominio variable de cadena pesada que tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

En aún otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en la que la inmunoglobulina de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45, y/o la inmunoglobulina de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

En aún otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en la que el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77, y/o el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

Se proporciona además un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende cualquiera de los siguientes conjuntos de inmunoglobulinas de cadena pesada e inmunoglobulinas de cadena ligera: (1) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3; (2) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4; (3) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de

aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 5; (4) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6; (5) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7; (6) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3; (7) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11; (8) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 9; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11; (9) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 10; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11; (10) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13; (11) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 14; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 15; (12) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 79; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3; (13) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 5; (14) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 5; (15) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6; (16) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7; (17) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3; (18) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 82; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia

de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11; (19) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 83; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11; (20) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 84; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11; (21) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 85; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13; (22) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 86; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 15.

Además, en el presente documento se proporciona un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende cualquiera de los siguientes conjuntos de dominio variable de cadena pesada y dominio variable de cadena ligera: (1) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70; (2) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 71; (3) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 72; (4) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 73; (5) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58; (6) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70; (7) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 64; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (8) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 65; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (9) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 66; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (10) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID

NO: 67; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 75; u (11) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 68; y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 76.

En un modo de realización preferente, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un dominio V_H que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58.

En otro modo de realización preferente, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

En otro modo de realización preferente más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

En un modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57.

En otro modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57, en la que la cadena ligera comprende además la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 90.

En otro modo de realización más, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57, en la que la cadena pesada comprende además la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 89.

En aún modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57, en la que la cadena ligera comprende además la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 90 y la cadena pesada comprende además la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 89.

En un modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos

expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2.

En otro modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2.

En un modo de realización de la invención, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo está glucosilado, por ejemplo, con glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas o glucanos unidos a N de células de ovario de hámster chino (CHO). En un modo de realización de la invención, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno es un anticuerpo.

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento.

En determinados modos de realización, la composición comprende además un agente terapéutico (por ejemplo, pembrolizumab). En algunos modos de realización, la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otros modos de realización, la composición comprende además un agente terapéutico (por ejemplo, pembrolizumab) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un modo de realización, la composición farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en las que cada cadena ligera consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2, y (ii) pembrolizumab.

La presente invención proporciona además un polipéptido (por ejemplo, un polipéptido aislado) que incluye la cadena ligera de inmunoglobulina y/o la cadena pesada de inmunoglobulina o un dominio variable de las mismas de cualquier anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento. Por ejemplo, en un modo de realización de la invención, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1-39, 44, 45, 47-58, 63-77 y 79-86. Mediante la presente invención también se proporciona cualquier polinucleótido (por ejemplo, ADN o ARN) que codifica cualquier polipéptido que se divulga en el presente documento. En otro aspecto, se proporciona un vector que comprende el polinucleótido que se divulga en el presente documento. La presente invención también proporciona una célula huésped (por ejemplo, una célula CHO) que comprende el polinucleótido o el vector que se divulgan en el presente documento.

La presente invención proporciona un procedimiento para bloquear la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F, por ejemplo, *in vitro* o *in vivo*, por ejemplo, en el cuerpo de un sujeto (por ejemplo sujeto humano) que lo necesita, que comprende administrar, al sujeto, una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento. En determinados modos de

realización, el procedimiento para bloquear la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F comprende además realizar un procedimiento terapéutico (por ejemplo, radioterapia contra el cáncer o tumorectomía quirúrgica) al sujeto. En algunos modos de realización, el procedimiento para bloquear la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F comprende además administrar un agente terapéutico (por ejemplo, pembrolizumab) al sujeto. En otros modos de realización, el procedimiento para bloquear la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F comprende además realizar un procedimiento terapéutico (por ejemplo, radioterapia contra el cáncer o tumorectomía quirúrgica) y administrar un agente terapéutico (por ejemplo, pembrolizumab) al sujeto.

La presente invención también proporciona un procedimiento de tratamiento de un cáncer en un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano), que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento. En determinados modos de realización, el procedimiento para tratar un cáncer comprende además realizar un procedimiento terapéutico (por ejemplo, radioterapia contra el cáncer o tumorectomía quirúrgica) al sujeto. En algunos modos de realización, el procedimiento para tratar un cáncer comprende además administrar un agente terapéutico (por ejemplo, pembrolizumab) al sujeto. En otros modos de realización, el procedimiento para tratar un cáncer comprende además realizar un procedimiento terapéutico (por ejemplo, radioterapia contra el cáncer o tumorectomía quirúrgica) y administrar un agente terapéutico (por ejemplo, pembrolizumab) al sujeto.

La presente invención también proporciona un procedimiento de producción del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención o una cadena de inmunoglobulina del mismo (por ejemplo, un V_H y/o V_L de la misma) que comprende cultivar una célula huésped (por ejemplo, una célula CHO) que comprende un polinucleótido (por ejemplo, en el que el polinucleótido está en un vector y/o está integrado en uno o más cromosomas de la célula huésped) que codifica el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o una cadena de inmunoglobulina del mismo para expresar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o una cadena de inmunoglobulina del mismo.

Se proporciona también un procedimiento para producir el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención o una cadena de inmunoglobulina del mismo (por ejemplo, un V_H y/o V_L de la misma), que comprenden: expresar un polinucleótido que codifique el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o una cadena de inmunoglobulina.

Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 humano o una cadena de inmunoglobulina del mismo que es un producto de dicho procedimiento también es parte de la presente invención.

Un procedimiento para detectar la presencia de un péptido de ILT4 o un fragmento del mismo en una muestra también forma parte de la presente invención. El procedimiento comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno

de la presente invención y detectar la presencia de un complejo entre el anticuerpo o fragmento y el péptido de ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo; en el que la detección del complejo indica la presencia del péptido de ILT4 o fragmento del mismo. En un modo de realización de la invención, el procedimiento se realiza *in vitro*, por ejemplo, en una muestra biológica, por ejemplo, corte quirúrgico o muestra de sangre, de un sujeto. En otro modo de realización, el procedimiento se realiza *in vivo*, por ejemplo, en el cuerpo de un sujeto. En otro modo de realización más, el sujeto es un sujeto humano.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Mapa de calor de marcaje con deuterio de la unión de p1E1(G1) a ILT4-His.

Las **figuras 2A y 2B** muestran la estructura cristalina de ILT4 humano. La **figura 2A** muestra los niveles de marcación con deuterio cartografiados en la estructura de ILT4 humano. La **figura 2B** muestra la estructura cristalina de los dominios 1 y 2 de ILT4 humano que forma complejos con HLA-G. Se indican ILT4, cadena pesada de HLA-G y beta-2-microglobulina. Se indican los epítomos, que tiene los residuos LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59), TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62).

Las **Figuras 3A y 3B** muestran unión de HLA-G a ILT4 y bloqueo con 1E1 (G4). Los linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con ILT4 humano se bloquearon con Fc block, entonces, se incubaron con concentraciones tituladas de 1E1 (G4) (comenzando en 27 ug/ml, diluciones 1:3) o con control de isotipo para hIgG4 (27 ug/ml). **Figura 3A.** Se detectó 1E1 (G4) o hIgG4 con F(ab')₂ anti-humano de cabra marcado con flurocromo y se detectó mediante citometría de flujo. **Figura 3B.** Después del pretratamiento con 1E1 (G4), las células se incubaron con 2 ug/ml de Fc de control o HLA-Fc biotinilado (mVISTA-Fc). La unión de Fc se detectó con estreptavidina conjugada con PE y se detectó mediante citometría de flujo. Los gráficos mostrados son representativos de 3 experimentos independientes. Los valores de CI50 y CE50 que se muestran son el promedio de estos experimentos +/- la desviación estándar.

Figura 4. Unión de ligando para CPH de clase I distinto de HLA-G a ILT4 y bloqueo con p1E1 (G1). Los linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con ILT4 humano se pretrataron con concentraciones tituladas de p1E1 (G1) (comenzando en 10 ug/ml, diluciones 1:3) o con control de isotipo para hIgG1 (10 ug/ml) antes de la incubación con tetrámeros marcados con fluorocromo de HLA-F o CD1d o dexámeros marcados con fluorocromo de HLA*A2:01 o HLA*B7:02. La unión a tetrámero/dexámero se determinó mediante citometría de flujo y se representó gráficamente la intensidad de fluorescencia media de cada uno. Las diluciones/concentraciones usadas para cada dexámero/tetrámero son como sigue: HLA*A2:01-dex PE: 1:25; HLA*B7:02-dex FITC: 1:25; CD1d-tet PE: 1:50; HLA-F-tet PE: 1 ug/ml.

Figuras 5A-5C. Unión de ANGPTL a ILT4 y bloqueo con p1E1 (G1). **Figura 5A.** Las proteínas ANGPTL biotiniladas se preincubaron durante 20 min con p1E1 (G1) o IgG1 humana, la concentración final de cada una fue de 20 ug/ml. Entonces, se añadieron soluciones a linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con ILT4 humano y se incubaron durante 30 minutos adicionales. La unión de ANGPTL se detectó con estreptavidina conjugada con PE y se analizó mediante citometría de flujo. También se añadió tetrámero de HLA-G marcado con PE como control de unión a/bloqueo de ILT4 positivo. Las proteínas ANGPTL se adquirieron de R&D SYSTEMS y se biotinilaron; **Figura 5B.** Los linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con ILT4 humano se bloquearon con Fc block, entonces, se incubaron con 20 ug/ml de p1E1 (G1) o control de isotipo para hIgG1. Después de la incubación, se detectó p1E1 (G1) o hIgG1 con F(ab')₂ anti-humano de cabra marcado con flurocromo y se analizó mediante citometría de flujo; **figura 5C.** Se usaron linfocitos T 3A9 de control de vector como control negativo para la unión a ANGPTL. Las células se trataron como se describe en (A), salvo que no se realizó tratamiento con anticuerpo.

Figura 6A y 6B. Especificidad de unión de 1E1(G4) a la familia de ILT. Se usaron los linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con miembros de la familia de ILT humano derivados de secuencias consenso publicadas en la base de datos Uniprot para someter a prueba la unión del anticuerpo de control de isotipo para hIgG4 o 1E1 (G4) a una dosis fija de 10 ug/ml. Los linfocitos T 3A9 de control de vector se usaron como control negativo adicional. También se muestra la unión de anticuerpos reactivos con ILT disponibles comercialmente en comparación con su control de isotipo respectivo para demostrar la expresión de los miembros de la familia de ILT. Los datos que se muestran son representativos de dos experimentos con resultados similares. Véase la leyenda incluida en la figura.

Figura 7. Restablecimiento de la liberación de IL-2 a partir de transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 con 1E1 (G4). Los linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con ILT4 humano se trataron con anticuerpo anti-CD3 unido a placa en presencia de 1E1 (G4) o control de isotipo (hIgG4) soluble, comenzando en 27 ug/ml, y se diluyeron en serie 3 veces a 0,3 ug/ml. Después de 24 h de incubación, los sobrenadantes se eliminan y la IL-2 de ratón se mide mediante ELISA. La gráfica mostrada es representativa de 5 experimentos independientes. El valor de CE50 que mostrado es el promedio de estos experimentos +/- la desviación estándar.

Figure 8. p1E1 (G4) y 1E1 (G4) restablecieron la supresión inducida por ILT4:HLA-G de la desgranulación de los mastocitos. Los mastocitos WTMC de ratón se transfectaron con ILT4 humano y se pretrataron con concentraciones tituladas de E1 (G4), p1E1 (G4) o control de isotipo para hIgG4 (comenzando en 10 ug/ml, diluciones 1:3) antes de estimular con anti-CD200R1a unido a placa (clon DX89; 1 ug/ml) y tetrámero de HLA-G unido a placa (0,625 ug/ml). Después de la estimulación durante 1 hora, se evaluó la desgranulación obteniendo los sobrenadantes de los mastocitos para medir la liberación de

β -hexosaaminidasa usando un ensayo colorimétrico enzimático. Los datos mostrados son representativos de 2 experimentos independientes con 3 repeticiones técnicas por punto de datos.

Figuras 9A-9B. 1E1 (G4) potenciaba la expresión inducida por LPS de citocinas mieloides proinflamatorias. Se aislaron PBMC completos de pacientes sanos de cámaras de leucorreducción y se trataron con 0,25 ug/ml de LPS en presencia de hIgG4 (30 ug/ml, círculos abiertos) o bien 1E1 (G4) (marcado como "1E1" en la figura) (entre 30 ug/ml y 3 pg/ml; círculos cerrados) durante 3 días. Después de la estimulación, los sobrenadantes se sometieron a prueba para determinar la expresión de citocinas ((**figura 9A**) GM-CSF y (**figura 9B**) TNFa) usando un kit de ensayo para múltiples citocinas Meso Scale Discovery. Cada color representa datos de un paciente individual. También se muestran las condiciones sin ninguna estimulación (triángulos cerrados).

Figuras 10A-B. 1E1 (G4) potenciaba la expresión inducida por anti-CD3 de citocinas mieloides proinflamatorias. (AB) Se aislaron PBMC completos de pacientes sanos de cámaras de leucorreducción y se trataron con 0,01 ug/ml de anti-CD3 (HIT3a) en presencia de hIgG4 (30 ug/ml, círculos abiertos) o bien 1E1 (G4) (marcado como "1E1" en la figura) (entre 30 ug/ml y 3 pg/ml; círculos cerrados) durante 3 días. Después de la estimulación, los sobrenadantes se sometieron a prueba para determinar la expresión de citocinas ((**figura 10A**) GM-CSF y (**figura 10B**) TNFa) usando un kit de ensayo para múltiples citocinas Meso Scale Discovery. Cada color representa datos de un paciente individual. También se muestran las condiciones sin ninguna estimulación (triángulos cerrados).

Figuras 11A-11E. El tratamiento con p1E1 (G4) da lugar a la inhibición del crecimiento tumoral en un modelo tumoral SKMEL5 de ratón humanizado. Los ratones humanizados con injerto de sangre del cordón umbilical CD34+ de 2 donantes de sangre del cordón umbilical diferentes se inocularon por vía subcutánea con 1×10^6 de células tumorales SKMEL5 en sus costados. Después de la inoculación, se dejó que los tumores crecieran y los que alcanzaron un tamaño promedio de 150 mm^3 se asignaron al azar en grupos de 6 (3 de cada donante de células madre, $n = 6$ por grupo total). Se expuso a los ratones a control de isotipo para hIgG4 o bien p1E1 (G4) (20 mg/kg cada uno) cada 5 días, midiéndose semanalmente los tumores y pesos, hasta el final del estudio. Se realizó un seguimiento del crecimiento del tumor en los ratones tratados con control de isotipo y p1E1 (G4) a lo largo del tiempo. La **figura 11A** muestra el volumen tumoral medio a lo largo del tiempo (mm^3) $\pm$ DE para ambos grupos, y las figuras **11B** y **11C** muestran los volúmenes tumorales en ratones individuales (mm^3) a lo largo del tiempo para los tratados con isotipo y p1E1 (G4), respectivamente. (D) La **figura 11D** muestra el peso tumoral en ratones individuales tratados con control de isotipo o p1E1 (G4) como se siguió a lo largo del tiempo; la **figura 11E** muestra que también se midió la pérdida de peso de cada grupo de tratamiento a lo largo del tiempo. Tras completar el estudio, se sacrificaron los ratones y se obtuvieron y pesaron los tumores.

Las **figuras 12A-12D** demuestran que el tratamiento con 1E1(G4) dio lugar a la inhibición del tratamiento tumoral en un modelo de tumor SK-MEL-5 de ratón humanizado. La **figura 12A** muestra la media del volumen tumoral (mm^3) $\pm$ DE a lo largo del tiempo tanto para los ratones tratados con 1E1(G4) como para los ratones tratados con control de isotipo. La **figura 12B** muestra la variación en el peso corporal a lo largo del tiempo para ambos grupos. La **figura 12C** muestra el peso corporal al final del ensayo en ratones individuales tratados con control de isotipo o 1E1(G4). La **figura 12D** muestra el peso del bazo al final del ensayo en ratones individuales tratados con control de isotipo o 1E1(G4).

Figura 13. Unión de haplotipos de ILT4. Los linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con variantes alélicas de ILT4 humano se usaron para someter a prueba la unión del anticuerpo de control de isotipo para hIgG4 o 1E1 (G4) a una dosis fija de 10 $\mu\text{g/ml}$. Los linfocitos T 3A9 de control de vector se usaron como control negativo adicional. Los haplotipos se explican en la tabla 2. Los datos que se muestran son representativos de dos experimentos con resultados similares.

Figuras 14A y 14B. Expresión de ARN de ILT4 en diferentes tipos tumorales o tipos celulares según bases de datos públicas. La **figura 14A** muestra la expresión de ARN de ILT4 en varios tipos tumorales según la base de datos TCGA. La **figura 14B** muestra la expresión de ARN de ILT4 en varios tipos celulares según la base de datos Blueprint.

Las **figuras 15A y 15B** muestran la unión de 1E1(G4) a células mieloides de muestras de histocultivo de tumores de carcinoma de células renales (RCC) (**figura 15A**) y cáncer colorrectal (CRC) (**figura 15B**).

Figura 16. Glucanos unidos a N predominantes para anticuerpos monoclonales producidos en células de ovario de hámster chino (glucanos unidos a N de CHO) y en células de levaduras genomanipuladas (glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas): cuadrados: N-acetilglucosamina (GlcNac); círculos: manosa (Man); rombos: galactosa (Gal); triángulos: fucosa (Fuc).

La **figura 17** muestra la eficacia antitumoral de varios anticuerpos anti-ILT4 en un modelo de tumor SK-MEL-5 de ratón humanizado.

Descripción detallada de la invención

Para que la invención se entienda más fácilmente, determinados términos técnicos y científicos se definen específicamente a continuación. A menos que se defina en otra parte en este documento, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención.

Como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una" y "el/la" incluyen sus referencias en plural correspondientes a menos que el contexto establezca claramente lo contrario.

"Afinidad" se refiere a la fuerza de la suma total de las interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su ligando (por ejemplo, un antígeno). A menos que se indique lo contrario, como se usa en el presente documento, "afinidad de unión" se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su ligando Y generalmente se puede representar mediante la constante de disociación (K_D). La afinidad se puede medir mediante procedimientos comunes conocidos en la técnica, incluyendo KinExA y Biacore.

Como se usa en el presente documento, el término "anticuerpo" incluye, pero no se limita a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), anticuerpos completamente humanos y anticuerpos quiméricos.

Como se usa en el presente documento, a menos que se indique lo contrario, "fragmento de unión a antígeno" se refiere a fragmentos de unión a antígeno de anticuerpos, es decir, fragmentos de anticuerpo que retienen la capacidad de unirse al antígeno unido por el anticuerpo de longitud completa, por ejemplo, fragmentos que retienen una o más regiones CDR. Los ejemplos de fragmentos de unión a anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, los fragmentos Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv y las cadenas pesada o ligera de anticuerpos individuales y las regiones variables de la cadena pesada o de la cadena ligera individuales. .

Un "fragmento Fab" comprende una cadena ligera y el CH1 y regiones variables de una cadena pesada. La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de cadena pesada. Un "fragmento Fab" puede ser el producto de la escisión con papaína de un anticuerpo.

Una región "Fc" contiene dos fragmentos de cadena pesada que comprenden los dominios CH1 y CH2 de un anticuerpo. Los dos fragmentos de cadena pesada se mantienen unidos entre sí mediante dos o más enlaces disulfuro y mediante interacciones hidrófobas de los dominios CH3.

Un "fragmento Fab'" contiene una cadena ligera y una porción o fragmento de una cadena pesada que contiene el dominio V_H y el dominio CH1 y también la región entre los dominios CH1 y CH2, de tal manera que se pueda formar un enlace disulfuro intercatenario entre las dos cadenas pesadas de dos fragmentos Fab' para formar una molécula $F(ab')_2$.

Un "fragmento $F(ab')_2$ " contiene dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que contienen una porción de la región constante entre los dominios CH1 y CH2, de tal manera que se forme un enlace disulfuro intercatenario entre las dos cadenas pesadas. De esta manera, el fragmento $F(ab')_2$ se compone de dos fragmentos Fab' que se mantienen unidos entre sí mediante un enlace disulfuro entre las dos cadenas pesadas. Un "fragmento $F(ab')_2$ " puede ser el producto de la escisión con pepsina de un anticuerpo.

La "región Fv" comprende las regiones variables de tanto las cadenas pesada como ligera, pero carece de las regiones constantes.

"Anticuerpo aislado" se refiere al estado de purificación y en dicho contexto significa que la molécula está sustancialmente libre de otras moléculas biológicas, tales como ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, carbohidratos u otro material, tal como restos celulares y medios de crecimiento. Generalmente, no se pretende que el término "aislado" se refiera a una ausencia completa de dicho material o a una ausencia de agua, tampones o sales, a menos que estén presentes en cantidades que interfieran sustancialmente con el uso experimental o terapéutico del compuesto de unión como se describe en el presente documento.

La expresión "anticuerpo monoclonal", como se usa en el presente documento, se refiere a una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir las moléculas de anticuerpo que comprenden la población son idénticas en las secuencias de aminoácidos, salvo por posibles mutaciones naturales que pueden estar presentes en cantidades minoritarias. Por el contrario, las preparaciones de anticuerpos convencionales (policlonales) incluyen típicamente una multitud de anticuerpos diferentes que tienen diferentes secuencias de aminoácidos en sus dominios variables que a menudo son específicas para diferentes epítomos. El término "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo según se obtiene a partir de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos y no se ha de interpretar como que requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier procedimiento particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se van a usar de acuerdo con la presente invención se pueden preparar mediante el procedimiento de hibridoma descrito por primera vez por Kohler *et al.* (1975) Nature 256: 495, o se pueden preparar mediante procedimientos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la pat de EE. UU. n.º 4.816.567). Los "anticuerpos monoclonales" se pueden aislar de colecciones de anticuerpos en fago usando las técnicas descritas en Clackson *et al.* (1991) Nature 352: 624-628 y Marks *et al.* (1991) J. Mol. Biol. 222: 581-597, por ejemplo. Véase también Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731.

El término "anticuerpo completamente humano" se refiere a un anticuerpo que comprende únicamente secuencias de proteínas de inmunoglobulina humana. Un anticuerpo completamente humano puede contener cadenas de carbohidrato murinas si se produce en un ratón, en una célula de ratón o en un hibridoma derivado de una célula de ratón. De la misma manera, "anticuerpo de ratón" se refiere a un anticuerpo que comprende únicamente secuencias de inmunoglobulina de ratón. De manera alternativa, un anticuerpo completamente humano puede contener cadenas de carbohidrato murinas si se produce en una rata, en una célula de rata o en un hibridoma derivado de una célula de rata. De la misma manera, "anticuerpo de rata" se refiere a un anticuerpo que comprende únicamente secuencias de inmunoglobulina de rata.

En general, la unidad estructural básica de "anticuerpo" comprende un tetrámero. En un anticuerpo monoespecífico, cada tetrámero incluye dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (de aproximadamente 25 kD) y una "pesada" (de aproximadamente 50-70 kD). La porción de extremo N de cada cadena

incluye una “región variable” o “dominio variable” de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos responsables principalmente del reconocimiento de antígenos. La porción de extremo C de la cadena pesada puede definir una región constante responsable principalmente de la función efectora.

Típicamente, las cadenas ligeras constantes humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda. Además, las cadenas pesadas constantes humanas se clasifican típicamente como mu, delta, gamma, alfa o épsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. Los subtipos de estas IgG incluyen, por ejemplo, IgG1 e IgG4. La presente invención incluye anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno que comprenden cualquiera de estas cadenas constantes ligeras y/o pesadas.

“Región variable”, “dominio variable”, “región V” o “cadena V” como se usan en el presente documento significan el segmento de las cadenas de IgG que es variable en secuencia entre diferentes anticuerpos. Una “región variable” de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo o la región variable de la cadena pesada del anticuerpo, bien sola o en combinación. La región variable de la cadena pesada puede denominarse “V_H”. La región variable de la cadena ligera puede denominarse “V_L”. Típicamente, los dominios variables de tanto las cadenas pesada como ligera comprenden tres regiones hipervariables, también llamadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), que están localizadas dentro de regiones estructurales (FR) relativamente conservadas. Las CDR normalmente se alinean mediante las regiones estructurales, lo que posibilita la unión a un epítipo específico. En general, desde el extremo N al extremo C, los dominios variables de tanto las cadenas ligera como pesada comprenden FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio está, en general, de acuerdo con las definiciones de: *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Kabat, *et al.*; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5.º ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat (1978) *Adv. Prot. Chem.* 32:1-75; Kabat, *et al.*, (1977) *J. Biol. Chem.* 252:6609-6616; Chothia, *et al.*, (1987) *J Mol. Biol.* 196:901-917 or Chothia, *et al.*, (1989) *Nature* 342:878-883.

Una “CDR” se refiere a una de las tres regiones hipervariables (H1, H2 o H3) dentro de la región estructural de la estructura de lámina β de V_H del anticuerpo. En consecuencia, las CDR son secuencias de región variable intercaladas dentro de las secuencias de la región estructural. Las regiones CDR son bien conocidas por los expertos en la técnica y han sido definidas, por ejemplo, por Kabat como las regiones de mayor hipervariabilidad dentro de los dominios variables de un anticuerpo. Las secuencias de las regiones CDR también han sido definidas estructuralmente por Chothia como aquellos residuos que no son parte de la estructura de lámina β conservada y, por lo tanto, son capaces de adaptarse a una conformación diferente. Ambas terminologías son bien conocidas en la técnica. Las secuencias de regiones CDR también han sido definidas por AbM, Contact e IMGT. Las posiciones de las CDR dentro de una región variable de

anticuerpo canónica se han determinado mediante comparación de numerosas estructuras (Al-Lazikani *et al.*, 1987, J. Mol. Biol. 273:927-48; Morea *et al.*, 2000, Methods 20:267-79). Como el número de residuos dentro de una región hipervariable varía en diferentes anticuerpos, los residuos adicionales con respecto a las posiciones canónicas se numeran de forma convencional con a, b, c y así sucesivamente junto al número de residuo en el esquema de numeración de la región variable canónica (Al-Lazikani *et al.*, *supra*). Dicha nomenclatura es de forma similar bien conocida por los expertos en la técnica. La correspondencia entre el sistema de numeración, incluida, por ejemplo, la numeración de Kabat y el sistema de numeración único IMGT, es bien conocida por el experto en la técnica y se muestra a continuación en la tabla 1. En algunos modos de realización, las CDR son como se define por el sistema de numeración de Kabat. En otros modos de realización, las CDR son como se definen por el sistema de numeración IMGT. En otros modos de realización más, las CDR son como se definen por el sistema de numeración AbM. En aún otros modos de realización, las CDR son como se definen por el sistema de numeración de Chothia. En otros modos de realización más, las CDR son como se define por sistema de numeración Contact.

Tabla 1. Correspondencia entre los sistemas de numeración de CDR

	Kabat + Chothia	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
V _H CDR1	26-35	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
V _H CDR2	50-65	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
V _H CDR3	95-102	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
V _L CDR1	24-34	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
V _L CDR2	50-56	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
V _L CDR3	89-97	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

La identidad de secuencia se refiere al grado en que los aminoácidos de dos polipéptidos son iguales en posiciones equivalentes cuando las dos secuencias están alineadas de manera óptima.

La similitud de secuencia incluye residuos idénticos y no idénticos, aminoácidos relacionados bioquímicamente. Los aminoácidos relacionados bioquímicamente que comparten propiedades similares y pueden ser intercambiables se analizan anteriormente.

"Variantes modificadas de manera conservadora" o "sustitución conservadora" se refiere a sustituciones de aminoácidos en una proteína con otros aminoácidos que tienen características similares (por ejemplo, carga, tamaño de cadena lateral, hidrofobia/hidrofilia, rigidez y conformación de la cadena principal, etc.), de tal manera que se puedan hacer frecuentemente los cambios sin alterar la actividad biológica de la proteína. Los expertos en la técnica reconocen que, en general, las sustituciones de un único aminoácido en regiones no esenciales de un polipéptido no alteran sustancialmente la actividad biológica (véase, por ejemplo, Watson *et al.* (1987) Molecular Biology of the

Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4.º ed.)). Además, es menos probable que las sustituciones de aminoácidos estructural o funcionalmente similares perturben la actividad biológica. Las sustituciones conservadoras ejemplares se exponen en la tabla 2.

TABLA 2. Sustituciones de aminoácidos conservadoras ejemplares

Residuo original	Sustitución conservadora
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

El término “epítopo”, como se usa en el presente documento, se refiere a un área o región en un antígeno al que se une un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. La unión de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento significa que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une a uno o más residuos de aminoácido en el epítopo.

Polinucleótido o molécula de ácido nucleico "aislado" significa un ADN o ARN, por ejemplo, de origen genómico, ARNm, ADNc o sintético o alguna combinación de los mismos, que no se asocia con todo o una porción de un polinucleótido en el que se encuentra el polinucleótido aislado en la naturaleza, o se enlaza a un polinucleótido al que no se enlaza en la naturaleza. Para los propósitos de esta divulgación, se debe entender que "un polinucleótido que comprende" (o similar) una secuencia de nucleótido particular no abarca cromosomas intactos. Los polinucleótidos aislados "que comprenden" secuencias de

ácido nucleico especificadas pueden incluir, además de las secuencias especificadas, secuencias codificantes para hasta diez o incluso hasta veinte o más de otras proteínas o porciones o fragmentos de las mismas, o pueden incluir secuencias reguladoras unidas operativamente que controlan la expresión de la región codificante de las secuencias de ácido nucleico citadas, y/o pueden incluir secuencias de vector.

La frase "secuencias de control" se refiere a secuencias de polinucleótido necesarias o útiles para la expresión de una secuencia codificante unida operativamente en un organismo huésped particular. Las secuencias de control que son adecuadas para procariotas, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia operadora y un sitio de unión a ribosoma. Se sabe que las células eucariotas usan promotores, señales de poliadenilación y potenciadores. En un modo de realización de la invención, el polinucleótido está unido operativamente a un promotor, tal como un promotor vírico, un promotor de CMV, un promotor de SV40 o un promotor no vírico o un promotor del factor de elongación (FE)-1; y/o un intrón.

Un ácido nucleico está "unido operativamente" cuando se dispone en una relación funcional con otro polinucleótido. Por ejemplo, el ADN para una presecuencia o líder secretor está unido operativamente al ADN para un polipéptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está unido operativamente a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión a ribosoma está unido operativamente a una secuencia codificante si está posicionado para que facilite la traducción. Generalmente, pero no siempre, "unido operativamente" significa que las secuencias de polinucleótido que están unidas son contiguas y, en el caso de un líder secretor, contiguas y en fase de lectura. Sin embargo, los potenciadores no tienen que ser contiguos. El enlace se logra mediante ligadura en sitios de restricción convenientes. Si dichos sitios no existen, los adaptadores o enlazadores de oligonucleótidos sintéticos se usan de acuerdo con la práctica convencional.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "célula"; "línea celular" y "cultivo celular" se usan de manera intercambiable y dichas designaciones incluyen la descendencia. De esta manera, las palabras "transformantes" o "células transformadas" incluyen la célula objeto principal y los cultivos derivados de la misma, sin tener en cuenta el número de transferencias. También se entiende que toda la descendencia tendrá un contenido de ADN precisamente idéntico, debido a mutaciones deliberadas o accidentales. Se incluye la descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica que fue cribada en la célula transformada originalmente. Si se pretenden designaciones distintas, esto quedará claro a partir del contexto.

Las células huésped incluyen células huésped eucariotas y procariotas, incluyendo células de mamífero. Las células huésped se pueden usar como huéspedes para la expresión de los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Las células huésped incluyen, entre otras, células de ovario de hámster chino (CHO), NSO, células SP2, células HeLa, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de mono

(COS), células de carcinoma hepatocelular humanas (por ejemplo, Hep G2), células A549, células 3T3 y células HEK-293. Las células huésped de mamíferos incluyen células humanas, de ratón, de rata, de perro, de mono, de cerdo, de cabra, bovinas, de caballo y de hámster. Otras líneas celulares que se pueden usar son líneas celulares de insecto, (por ejemplo, *Spodoptera frugiperda* o *Trichoplusia ni*), células de anfibio, células bacterianas, células vegetales y células fúngicas. Las células fúngicas incluyen células de levaduras y hongos filamentosos que incluyen, por ejemplo, *Pichia pastoris*, *Pichia finlandica*, *Pichia trehalophila*, *Pichia koclamae*, *Pichia membranaefaciens*, *Pichia minuta* (*Ogataea minuta*, *Pichia lindneri*), *Pichia opuntiae*, *Pichia thermotolerans*, *Pichia salictaria*, *Pichia guercuum*, *Pichia pijperi*, *Pichia stiptis*, *Pichia methanolica*, *Pichia* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces* sp., *Hansenula polymorpha*, *Kluyveromyces* sp., *Kluyveromyces lactis*, *Candida albicans*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, *Fusarium* sp., *Fusarium gramineum*, *Fusarium venenatum*, *Physcomitrella patens* y *Neurospora crassa*. *Pichia* sp., cualquier *Saccharomyces* sp., *Hansenula polymorpha*, cualquier *Kluyveromyces* sp., *Candida albicans*, cualquier *Aspergillus* sp., *Trichoderma reesei*, *Chrysosporium lucknowense*, cualquier *Fusarium* sp., *Yarrowia lipolytica*, y *Neurospora crassa*. La presente invención incluye cualquier célula huésped (por ejemplo, una célula CHO o célula de *Pichia*, por ejemplo, *Pichia pastoris*) que contenga un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo o que contenga un polinucleótido que codifique dicho anticuerpo o fragmento o que contenga un vector que contenga el polinucleótido.

"Tratar" o "tratamiento" significa administrar anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención a un sujeto que tiene uno o más síntomas de una enfermedad para la cual los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno son eficaces, por ejemplo, en el tratamiento de un sujeto que tiene cáncer o una enfermedad infecciosa, o que se sospecha que tiene cáncer o una enfermedad infecciosa, para lo cual el agente tiene actividad terapéutica. Típicamente, el anticuerpo o fragmento se administra en una "cantidad eficaz" o "dosis eficaz" que aliviará uno o más síntomas (por ejemplo, de cáncer o enfermedad infecciosa) en el sujeto o población tratados, ya sea induciendo la regresión o eliminación de tales síntomas o inhibiendo la progresión de dichos(s) síntoma(s), por ejemplo, síntomas de cáncer, tales como crecimiento tumoral o metástasis, en cualquier grado clínicamente mensurable. La cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad y el peso del paciente y la capacidad del fármaco para provocar una respuesta deseada en el sujeto.

Como se usa en el presente documento, un "anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo" se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 humano.

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos expuestos en el presente documento que se unen específicamente a ILT4. Un

anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une “específicamente” a un polipéptido que comprende una secuencia dada (por ejemplo, ILT4 humano) si se une a polipéptidos que comprenden la secuencia con una K_D de aproximadamente 20 nM o una afinidad más alta (por ejemplo, de aproximadamente 17 nM, 10 nM, 5 nM, 1 nM, 100 pM o 1 pM), pero no se une a proteínas que carecen de la secuencia. Por ejemplo, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que se une específicamente a un polipéptido que comprende ILT4 humano se pueden unir a una forma etiquetada con FLAG[®] de ILT4 humano, pero no se unirá a otras proteínas etiquetadas con FLAG[®] que carecen de secuencias de ILT4.

ILT4

En un modo de realización de la invención, la secuencia de aminoácidos de ILT4 humano comprende la secuencia de aminoácidos:

MTPIVTVLIC	LGLSLGPRTH	VQTGTIPKPT	LWAEPSVIT	QGSPVTLSCQ
GSLEAQEYRL	60			
YREKKSASWI	TRIRPELVKN	GQFHIPSITW	EHTGRYGCQY	YSRARWSELS
DPLVLVMTGA	120			
YPKPTLSAQP	SPVVTSGGRV	TLQCESQVAF	GGFILCKEGE	EEHPQCLNSQ
PHARGSSRAI	180			
FSVGPVSPNR	RWSHRCYGYD	LNSPYVWSSP	SDLLELLVPG	VSKKPSLSVQ
PGPVVAPGES	240			
LTLQCVSDVG	YDRFVLYKEG	ERDLRQLPGR	QPQAGLSQAN	FTLGPVSRSY
GGQYRCYGAH	300			
NLSSECSAPS	DPLDILITGQ	IRGTPFISVQ	PGPTVASGEN	VTLLCQSWRQ
FHTFLLTKAG	360			
AADAPLRLRS	IHEYPKYQAE	FPMSPV TSAH	AGTYRCYGSL	NSDPYLLSHP
SEPLELVVSG	420			
PSMGSSPPPT	GPISTPAGPE	DQPLTPTGSD	PQSGLGRLHG	VVIGILVAVV
LLLLLLLLLLF	480			
LILRHRRQGK	HWTSTQRKAD	FQHPAGAVGP	EPTDRGLQWR	SSPAADAQEE
NLYAAVKDTQ	540			
PEDGVEMDTR	AAASEAPQDV	TYAQLHSLTL	RRKATEPPPS	QEREPPAEPS
IYATLAIH	598 (SEQ ID NO: 40; secuencia señal subrayada).			
Uniprot Q8N423.				

En otro modo de realización de la invención, la secuencia de aminoácido de ILT4 humano comprende la siguiente secuencia de aminoácidos dentro de la secuencia señal:

QTGTIPKPT LWAEPDSVIT QGSPVTLSCQ GSLEAQEYRL	39
YREKKSASWI TRIRPELVKN GQFHIPSITW EHTGRYGCQY YSRARWSELS	
DPLVLVMTGA	99
YPKPTLSAQP SPVVTSGGRV TLQCESQVAF GGFILCKEKE EEHPQCLNSQ	
PHARGSSRAI	159

FSVGPVSPNR RWSHRCYGYD LNSPYVWSSP SDLLELLVPG VSKKPSLSVQ
PGPVVAPGES 219
LTLQCVSDVG YDRFVLYKEG ERDLRQLPGR QPQAGLSQAN FTLGPVSRSY
GGQYRCYGAH 279
NLSSECSAPS DPLDILITGQ IRGTPFISVQ PGPTVASGEN VTLLCQSWRQ
FHTFLLTKAG 339
AADAPLRLRS IHEYPKYQAE FPMSPV TSAH AGTYRCYGS L NSDPYLLSH P
SEPLELVVSG 399
PSMGSSPPPT GPISTPAGPE DQPLTPTGSD PQSGLGRHLG VVIGILVAVV
LLLLLLLLLF 459
LILRHRRQ GK HWTSTQRKAD FQHPAGAVGP EPTDRGLQWR SSPAADAQEE
NLYAAVKDTQ 519
PEDGVEMDTR AAASEAPQDV TYAQLHSLTL RRKATEPPPS QEREPPAEPS
IYATLAIH 577
(SEQ ID NO: 78).

En un modo de realización de la invención, la secuencia de aminoácidos de ILT4 de macaco cangrejero comprende la secuencia de aminoácidos:

MTPILMVLIC LGLSLGPRTH VQAGILPKPT LWAEPGSVIS EGSPVTLRCQ
GSLQVQEYHL 60
YREKNPASWV RQIRQELVKK GYFAIGFITW EHTGQYRCQY YSHSWWSEPS
DPLELVVTGA 120
YSKPTLSALP SPVVASGGNV TLQCDSQVAF DSFTLCKEKE DEHPQRLNCQ
SHARGWSWAV 180
FSVGPVSPSR RWSYRCYGYI SSAPNVWSLP SDLLELLVPG VSKKPSLSVQ
PGPVVAPGDK 240
LTLQCGSDAG YDRFALYKEG EGDFLQRPVR QPQAGLSQAN FLLGPVSRSH
GGQYRCSGAH 300
NLSSEWSAPS DPLDILIAGQ IRGRPFLSVQ PGPKVVSGEN VTLLCQSSWQ
FHAFLLTQAG 360
AADAHLHLRS MYKYPKYQAE FPMSPV TSAH AGTYRCYGS R SSNPYLLSVP
SDPLELVVSG 420
PSGGPSSPTT GPTSTCGPED QPLTPTGSAP QSGLGRHLGV VTGVLVAFVL
LLFLLLLLFL 480
VLRYYRRQGKR W TSAQRKADF QHPAGAVEPE PRDRGLQRRS SPAADTQEEN
LYAAVKDTQP 540
EDGVELDSRA AASEDPQDVT YAQLQSLTLR REATEPPPSQ ERAPPVESSI
YATLTIH 597
(SEQ ID NO: 43; secuencia señal subrayada). Véase NCBI refseq XP_005590753.

En un modo de realización de la invención, la secuencia señal para la expresión de ILT4 o cualquier otro polipéptido expuesto en el presente documento es

MTPILMVLICLGLSLGPRTHV (aminoácidos 1-21 de la SEQ ID NO: 40) o
MTPIVTVLICLGLSLGPRTHV (aminoácidos 1-21 de la SEQ ID NO: 43) o
MPLLLLLPLWAGALA (SEQ ID NO: 46).

En un modo de realización de la invención, un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de
unión a antígeno del mismo de la presente invención se une al dominio extracelular de
ILT4:

QTGTIPKPTLWAEPSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELV
KNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPSPVV
TSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRR
WSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVS
DVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHN
LSSECSAPSDPLDILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKA
GAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGSLSNDPYLLSHPSEPLEL
VVSGPSMGSSPPPTGPSTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGV

(aminoácidos 22-461 de la SEQ ID NO: 40) o una fusión de inmunoglobulinas del mismo
(por ejemplo, IgG1 o IgG4) o una forma transmembranaria (TM) de superficie celular que
se expresa en la superficie de una célula:

QTGTIPKPTLWAEPSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELV
KNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPSPVV
TSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRR
WSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLQCVS
DVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHN
LSSECSAPSDPLDILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKA
GAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGSLSNDPYLLSHPSEPLEL
VVSGPSMGSSPPPTGPSTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVVLLLL
LLLLLFLILRHRRQGKH

(aminoácidos 22-491 de la SEQ ID NO: 40).

Anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno

La presente invención proporciona anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de
los mismos (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos) que se unen a ILT4
(denominados en el presente documento “anti-ILT4”) y procedimientos de uso de los
anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos en el tratamiento o la
prevención de enfermedades. En un modo de realización, la invención proporciona
anticuerpos anti-ILT4 antagonistas y procedimientos de uso de los anticuerpos o
fragmentos de unión a antígeno de los mismos en el tratamiento o la prevención de
enfermedades.

En un aspecto, la presente solicitud incluye anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de
unión a antígeno de los mismos como se expone en el presente documento que tienen una o
más de las propiedades expuestas a continuación:

- se une a ILT4 humano en uno o más residuos de aminoácido en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59) y/o TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y/o HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62), y/o protege a LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59) y TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO: 61) y/o HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62) del intercambio de deuterio (por ejemplo, D₂O), por ejemplo, como se determina mediante espectrometría de masas de intercambio hidrógeno-deuterio y/o se une a ILT4 con un mapa de calor esencialmente como se muestra en la **figura 1**;
- se une a ILT4 humano en el dominio 1 (véase Wilcox *et al.* BMC Structural Biology 2:6 (2002));
- se une al dominio extracelular de ILT4 humano o forma TM de ILT4 expresada en una superficie celular, por ejemplo, un prelinfocito B, célula de ovario de hámster chino, célula U937 o célula Jurkat JE6.
- pI calculado ~ 7,29 (por ejemplo, 7,29 o 7,30);
- pI determinado experimentalmente ~ 7,2;
- se caracteriza por un termograma que tiene una Tf de inicio > 60 °C, Tf1 ~ 65,2 °C y Tf2 ~ 78,8 °C;
- se une a ILT4 humano con una K_D de aproximadamente 1,7 X 10⁻⁸ M (por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, la unión de anti-ILT4 a ILT4 humano etiquetado con polihistidina);
- Ka = 5,5 X 10⁵ M⁻¹ s⁻¹ (por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, la unión de anti-ILT4 a ILT4 humano etiquetado con polihistidina);
- Kd=9X10⁻³ s⁻¹ (por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, la unión de anti-ILT4 a ILT4 humano etiquetado con polihistidina);
- bloquea la unión de HLA-G (por ejemplo, HLA-G fusionado a Fc) a ILT4 humano (por ejemplo, ILT4 en linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con y que expresan ILT4), por ejemplo, con una CI₅₀ de aproximadamente 0,25 microgramos/ml (±0,06 microgramos/ml), por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial;
- bloquea la unión de HLA-A, HLA-B (por ejemplo, dexámeros marcados con fluorocromo de HLA-A, tales como HLA*A2:01 o HLA-B, tal como HLA*B7:02) y/o HLA-F (por ejemplo, tetrámeros marcados con fluorocromo de HLA-F) a ILT4 (por ejemplo, ILT4 en linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con y que expresan ILT4), por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial;
- bloquea la unión de ILT4 (por ejemplo, ILT4 en linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con y que expresan ILT4) a ANGPTL1, ANGPTL4 y/o ANGPTL7 (por ejemplo, proteínas ANGPTL biotiniladas), por ejemplo, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial;

- no se une a ILT2, ILT3, ILT5, LILRB5, LILRA1, LILRA2, ILT7, ILT8 y/o ILT11;
- invierte la supresión mediada por ILT4 de IL2 en células 3A9 transfectadas con ILT4, por ejemplo, con una CE₅₀ de 0,43 microgramos/ml ($\pm$ 0,14 microgramos/ml);
- restablece la supresión inducida por ILT4:HLA-G de la desgranulación de los mastocitos (por ejemplo, en presencia de tetrámero de HLA-G unido a placa), por ejemplo, en la que los mastocitos expresan ILT4 y CD200RLa y se estimulan, por ejemplo, con la reticulación mediada por anticuerpos de CD200RLa;
- mejora la expresión inducida por lipopolisacáridos (LPS) de citocinas mieloides proinflamatorias, por ejemplo, GM-CSF y/o TNFalfa, a partir de un leucocito monomorfonuclear en la sangre periférica (PBMC);
- potencia la expresión inducida por anti-CD3 de citocinas mieloides proinflamatorias, por ejemplo, GM-CSF y/o TNFalfa, a partir de un leucocito monomorfonuclear en la sangre periférica (PBMC);
- inhibe el crecimiento tumoral en seres humanos o, por ejemplo, en otros mamíferos, tales como ratones (por ejemplo, ratones NSG inmunodeficientes) que se reconstituyeron con hemocitoblastos humanos, por ejemplo, que albergan células inmunitarias CD45+ humanas periféricas, por ejemplo, en los que el tumor es un tumor de melanoma de piel humano, tal como de la línea celular SKMEL5;
- reduce la tolerancia tumoral mediada por macrófagos/células supresoras de origen mieloide (MDSC) en el cuerpo de un sujeto (por ejemplo, un sujeto humano) con un tumor;
- no se une a ILT4 de macaco cangrejero y/o pirB de ratón; y/o
- tiñe monocitos humanos CD14+ y/o granulocitos humanos CD11B+
- se une a uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o los 10) de los haplotipos de ILT4 humano expuestos en la **tabla 7**.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 1E1 (Q1E)

Cadena pesada

EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIG
STNYNPSLKSSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQLDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
K

(SEQ ID NO: 1; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 63)

Cadena pesada de anticuerpo 1E1 (Q1E, S54A) (IgG4)

Cadena pesada

EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHAG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKRVEISKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
K

(SEQ ID NO: 2; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHAG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSS
(SEQ ID NO: 57)

Cadena pesada (IgG1) de anticuerpo 1E1

Cadena pesada

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

(SEQ ID NO: 44; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 69)

CDR de cadena pesada de 1E1

CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16)

CDR-H2: EINHXGSTNYNPSLKS en la que X es S o A (por ejemplo, EINHSGSTNYNPSLKS o EINHAGSTNYNPSLKS) (SEQ ID NO: 17)

CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E)

Cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLG
PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 3; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL

(SEQ ID NO: 70)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, S54A)

Cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNANR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 4; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNANR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL

(SEQ ID NO: 71)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, N53Q)

Cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 5; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 72)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, N53E)

Cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGESNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLGQ
PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTP
SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 6; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGESNR
SGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 73)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1 (Q1E, N53D)

Cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGDSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLGQ
PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTP
SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 7; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGDSNR
SGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 58)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 1E1

Cadena ligera

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLG
QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 45; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVL
(SEQ ID NO: 77)

CDR de cadena ligera de 1E1

CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19)

CDR-L2: GX₁X₂NRPS; en la que X₁ es N,Q,E o D y X₂ es S o A (por ejemplo, GNSNRPS, GNANRPS, GQSNRPS, GESNRPS o GDSNRPS) (SEQ ID NO: 20)

CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las CDR de las cadenas pesada y ligera de 1E1 o las V_H y V_L de 1E1 o la cadena pesada y la cadena ligera de 1E1 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el presente documento) se pueden denominar “1E1”.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2A6 (Q1E)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFG
TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDSSGWYKGGAF
DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE
SKYGPPCPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGK

(SEQ ID NO: 8; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV
SCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFG
TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDSSGWYKGGAF
DIWGQGTMTVTVSS

(SEQ ID NO:64)

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2A6 (Q1E, S102A, M119L)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFG
TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYFDASGWYKGGAF
DIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE
SKYGPPCPCPPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGK

(SEQ ID NO: 9; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFG
TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARYFDASGWYKGGAF~~
DIWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 65)

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2A6 (Q1E, D101S, M119L)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFG
TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARYFSSSGWYKGGAF~~
DIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVE
SKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGK

(SEQ ID NO: 10; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFG
TANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED~~TAVYYCARYFSSSGWYKGGAF~~
DIWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 66)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno del mismo en los que el residuo 1 de SEQ ID NO: 8, 9, 10, 64, 65 o 66 es Q en lugar de E.

CDR de cadena pesada de 2A6

CDR-H1: SYAIS (SEQ ID NO: 22)

CDR-H2: GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 23)

CDR-H3: YFX₁X₂SGWYKGGAFDI; en la que X₁ es D o S y X₂ es S o A (por ejemplo, YFDSSGWYKGGAFDI, YFDASGWYKGGAFDI o YFSSSGWYKGGAFDI) (SEQ ID NO: 24)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 2A6

Cadena ligera

QSVLTQPSLSASPGASASLTCTLRSGINVDITYRIHWYQQKPGSPQYLLRYKSDSD
KHQGSGVPSRFSKDPANAGILLISGLQSEDEADYYCAIWYSSTWVFGGGTQLT

VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE
TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 11; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

QSVLTQPSSLSASPGASASLTCTLRSGINVDYRIHWYQQKPGSPQYLLRYKSDSD
KHQSGVPSRFSGSKDPSANAGILLISGLQSEDEADYYCAIWYSSTWVFGGGTQLT
VL

(SEQ ID NO: 74)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno del mismo en los que el residuo 1 de SEQ ID NO: 11 o 74 es E en lugar de Q.

CDR de cadena ligera de 2A6

CDR-L1: TLRSGINVDYRIH (SEQ ID NO: 25)

CDR-L2: YKSDSDKHQGS (SEQ ID NO: 26)

CDR-L3: AIWYSSTWV (SEQ ID NO: 27)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las CDR de las cadenas pesada y ligera de 2A6 o las V_H y V_L de 2A6 o la cadena pesada y la cadena ligera de 2A6 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el presente documento) se pueden denominar “2A6”.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 3G7 (Q1E)

Cadena pesada

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGEWIQLWSPE
DYWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNS
GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT KTYTCNV DHKPSNTKVDKRVE
SKYGPPCPCPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
SSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSLGK

(SEQ ID NO: 12; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente).

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAVISYD
GSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGEWIQLWSPE
DYWGQGT LVT VSS

(SEQ ID NO: 67)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos en los que el residuo 1 de la SEQ ID NO: 12 o 67 es Q en lugar de E.

CDR de cadena pesada de 3G7

CDR-H1: SYAMH (SEQ ID NO: 28)

CDR-H2: VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 29)

CDR-H3: VGEWIQLWSPFDY (SEQ ID NO: 30)

Cadena ligera (kappa) de anticuerpo 3G7

Cadena ligera

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASSLQS
GVPSKFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSTPPTFGGGTKVEIKRtVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 13; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASSLQS
GVPSKFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSTPPTFGGGTKVEIK

(SEQ ID NO: 75)

CDR de cadena ligera de 3G7

CDR-L1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 31)

CDR-L2: AASSLQS (SEQ ID NO: 32)

CDR-L3: QQYNSTPPT (SEQ ID NO: 33)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las CDR de las cadenas pesada y ligera de 3G7 o las V_H y V_L de 3G7 o la cadena pesada y la cadena ligera de 3G7 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el presente documento) se pueden denominar “3G7”.

Cadena pesada (IgG4) de anticuerpo 2C1 (Q1E)

Cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTSLSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDP
EDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCARAGPLYTIFGV
VIIPDNWFDPWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP
VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTKYTCNVDPHKPSNT
KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV

EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 14; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena pesada

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLTELSMHWVRQAPGKGLEWMGGFDP
EDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARAGPLYTIFGV
VIIPDNWFDPWGQGTLVTVSS

(SEQ ID NO: 68)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos en los que el residuo 1 de la SEQ ID NO: 14 o 68 es Q en lugar de E.

CDR de cadena pesada de 2C1

CDR-H1: ELSMH (SEQ ID NO: 34)

CDR-H2: GFDPEDGETIYAQKFQG (SEQ ID NO: 35)

CDR-H3: AGPLYTIFGVVIIPDNWFDP (SEQ ID NO: 36)

Cadena ligera (lambda) de anticuerpo 2C1 (Q1E)

Cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRP
SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSGVVFEGGGTQLIILG
QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 15; dominio variable subrayado; CDR subrayadas doblemente)

Dominio variable de cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRP
SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGSGVVFEGGGTQLIIL

(SEQ ID NO: 76)

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos en los que el residuo 1 de la SEQ ID NO: 15 o 76 es Q en lugar de E.

CDR de cadena ligera de 2C1

CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 37)

CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 38)

CDR-L3: QSYDSSLSGSGVV (SEQ ID NO: 39)

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyendo las CDR de las cadenas pesada y ligera de 2C1 o las V_H y V_L de 2C1 o la cadena pesada y la cadena ligera de 2C1 (o una variante de la misma, por ejemplo, como se expone en el presente documento) se pueden denominar “2C1”.

En varios modos de realización del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, una lisina C-terminal de una inmunoglobulina de cadena pesada está ausente.

Por lo tanto, en algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que la inmunoglobulina de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45; y/o la inmunoglobulina de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 o 86.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1 o 79; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3.

En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2 u 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 4.

En otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2 u 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 5.

En otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2 u 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 6.

En aún otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2 u 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2 u 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3.

En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 8 u 82; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11.

En otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 9 u 83; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11.

En otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 10 u 84; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11.

En aún otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 12 u 85; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 13.

En aún otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 14 u 86; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 15.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77; y/o el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70.

En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 71.

En otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 72.

En otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 73.

En aún otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70.

En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 64; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74.

En otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 65; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74.

En otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 66; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74.

En aún otros modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 67; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 75.

En aún otros modos de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende: un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 68; y dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 76.

En un modo de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 comprende un dominio variable de la cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 1E1 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 19-21); y un dominio variable de la cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 1E1 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 16-18).

En un modo de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 comprende un dominio variable de la cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 2A6 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 25-27); y un dominio variable de la cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 2A6 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 22-24).

En un modo de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 comprende un dominio variable de la cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 3G7 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 31-33); y un dominio variable de la cadena pesada de

inmunoglobulina (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 3G7 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 28-30).

En un modo de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 comprende un dominio variable de la cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 2C1 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 37-39); y un dominio variable de la cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 2C1 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 34-36).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS (SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS (SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS (SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS (SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID

NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS(SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS(SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS(SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS(SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS(SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS(SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS(SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS (SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS (SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS (SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende: un dominio V_H que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS (SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende el dominio V_L del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58 o 77) y/o el dominio V_H del anticuerpo 1E1 (por ejemplo SEQ ID NO: 63, 57 o 69).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende el dominio V_L del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 74) y/o el dominio V_H del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 64, 65 o 66).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende el dominio V_L del anticuerpo 2G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 75) y/o el dominio V_H del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 67).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende el dominio V_L del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 76) y/o el dominio V_H del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 68).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 o 45) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, 2, 44, 79, 80 u 81).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 11) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 8, 9, 10, 82, 83 u 84).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 13) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 12 u 85).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 y comprende la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 15) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 14 u 86).

La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende el V_L o inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1, y cada cadena pesada comprende el V_H o inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1.

En un modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57.

En otro modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57, en el que la cadena ligera comprende además la cadena de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 90.

En otro modo de realización más, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57, en el que la cadena pesada comprende además la cadena de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 89.

En aún otro modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57, en el que la cadena ligera comprende además la cadena de

aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 90 y la cadena pesada comprende además la cadena de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 89.

En un modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2.

En otro modo de realización, el anticuerpo consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2.

En un modo de realización de la invención, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente invención comprende un V_L (con o sin secuencia señal), por ejemplo, el V_L en cualquiera de la SEQ ID NO: 58 o 70-77 que tiene hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras; y/o un V_H (con o sin secuencia de señal), por ejemplo, el V_H en cualquiera de la SEQ ID NO: 57 o 63-69; que tiene hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras, mientras que todavía se une a ILT4.

La presente invención también incluye polipéptidos que comprenden las secuencias de aminoácidos divulgadas en el presente documento, por ejemplo, las SEQ ID NO: 1-39, 44, 45, 47-58, 63-77 o 79-86, así como polipéptidos que comprenden dichas secuencias de aminoácidos con hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 20 o más sustituciones de aminoácidos conservadoras o no conservadoras en los mismos.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que la inmunoglobulina de cadena ligera tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos un 90 % con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45, y/o la inmunoglobulina de cadena pesada tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos un 90 % con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que la inmunoglobulina de cadena ligera tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos un 90 % con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 370, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77, y/o la inmunoglobulina de cadena pesada tiene una identidad de secuencia de aminoácidos de al menos un 90 % con la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

En un modo de realización de la invención, una cadena pesada de inmunoglobulina de un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno de la presente invención está unida operativamente a una secuencia señal, por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos MEWSWVFLFFLSVTTGVHS (SEQ ID NO: 41) y/o una cadena ligera de inmunoglobulina de un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno de la presente invención está unida operativamente a una secuencia señal, por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos MSVPTQVLGLLLLWLTDARC (SEQ ID NO: 42).

En un modo de realización de la invención, una glutamina de extremo N (Q) de una cadena de inmunoglobulina expuesta en el presente documento (por ejemplo, pesada y/o ligera) se reemplaza por un ácido piroglutámico. En un modo de realización, una Q de extremo N de una inmunoglobulina de cadena pesada se reemplaza por ácido piroglutámico. En otro modo de realización, una Q de extremo N de una inmunoglobulina de cadena ligera se reemplaza por ácido piroglutámico. En otro modo de realización más, una Q de extremo N de una inmunoglobulina de cadena ligera y una Q de extremo N de una inmunoglobulina de cadena pesada se reemplazan por ácido piroglutámico.

Se proporcionan además en el presente documento anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno que se unen al mismo epítipo de ILT4 (por ejemplo, ILT4 humano) que cualquier anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1). En un modo de realización el epítipo es LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59). En otro modo de realización, el epítipo es TRIRPEL (SEQ ID NO: 60). En otro modo de realización más, el epítipo es NGQF (SEQ ID NO: 61). En aún otro modo de realización, el epítipo es HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62). En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo de ILT4 humano como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de aminoácido de cadena pesada y cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 1 y 3; 2 y 4; 2 y 5; 2 y 6; 2 y 7; 2 y 3; 8 y 11; 9 y 11; 10 y 11; 12 y 13; 14 y 15; 79 y 3; 80 y 4; 80 y 5; 80 y 6; 80 y 7; 80 y 3; 82 y 11; 83 y 11; 84 y 11; 85 y 13; y 86 y 15, respectivamente. En algunos modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se une al mismo epítipo de ILT4 humano como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las secuencias de aminoácido de dominio variable de cadena pesada y de dominio variable de cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 63 y 70; 57 y 71; 57 y 72; 57 y 73; 57 y 58; 57 y 70; 64 y 74; 65 y 74; 66 y 74; 67 y 75; 68 y 76, respectivamente.

La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que bloquean de manera cruzada la unión de cualquier anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1) a ILT4 (por ejemplo, ILT4) o que compita con cualquier anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo que se divulga en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1) por ILT4 (por ejemplo, ILT4). Los anticuerpos de

bloqueo cruzado y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos analizados en el presente documento se pueden identificar basándose en su capacidad para bloquear que cualquiera de los anticuerpos o fragmentos específicamente expuestos en el presente documento se una a ILT4, en ensayos de unión (por ejemplo, interferometría de biocapa (BLI; por ejemplo, ensayo de unión FORTEBIO OCTET, Pall ForteBio Corp; Menlo Park, CA), resonancia de plasmón superficial (SPR), BIACore, ELISA, citometría de flujo). Por ejemplo, en un modo de realización de la invención, cuando se usa BLI, la punta de una sonda de fibra óptica se recubre con ligando (por ejemplo, ILT4) y actúa como el biosensor en el que la unión del anticuerpo anti-ILT4 o al fragmento de unión a antígeno al ILT4 altera el patrón de interferencia de la luz blanca reflejada desde la capa de la sonda unida a ILT4 y una capa de referencia interna. El cambio es indicativo de la unión ILT4/anti-ILT4. En un modo de realización de la invención, la punta recubierta con ILT4 se sumerge en una solución de analito que contiene anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, por ejemplo, en el pocillo de una placa de 96 o bien 384 pocillos. En un modo de realización de la invención, la placa se agita durante la lectura para crear un flujo orbital. Para leer el ensayo, se dirige luz blanca por toda la longitud de la fibra. Como se menciona anteriormente, la interferencia entre la luz que se refleja de la capa de referencia y las superficies inmovilizadas que contienen ILT4 de la punta crea un patrón distintivo de luz que regresa a la fibra. A medida que las moléculas se unen a la superficie inmovilizada del sensor, ese patrón cambia en proporción al grado de unión. Por ejemplo, se pueden usar ensayos en los que se inmoviliza una proteína ILT4 (por ejemplo, ILT4 humano) en una placa o sonda de BLI, un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de referencia se une a ILT4 (por ejemplo, a una concentración de saturación) y se añade un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de prueba. Entonces, se determina la capacidad del anticuerpo de prueba para competir con el anticuerpo de referencia frente a la unión a ILT4. En el formato de BLI, se controla la interferencia de luz del complejo ILT4 para determinar si el anticuerpo de prueba compete eficazmente con el anticuerpo de referencia, por ejemplo, los nanómetros de longitud de onda de la luz cambian a lo largo del tiempo, en los que un cambio indica unión adicional del anticuerpo de prueba y una ausencia de bloqueo cruzado. En un modo de realización de la invención, en el formato de BLI, se considera cualitativamente que se ha producido bloqueo cruzado entre los anticuerpos si no se observa ninguna unión adicional del anticuerpo de prueba. En un modo de realización de la invención, como control, se confirma el bloqueo cruzado del anticuerpo de referencia consigo mismo; en el que se determina que el ensayo está funcionando correctamente si el anticuerpo de referencia se puede bloquear de manera cruzada a sí mismo de la unión a ILT4. La capacidad de un anticuerpo de prueba para inhibir la unión del anticuerpo anti-ILT4 o fragmento 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1, a ILT4 (por ejemplo, ILT4 humano) demuestra que el anticuerpo de prueba puede bloquear de manera cruzada el anticuerpo o fragmento frente a la unión a ILT4 (por ejemplo, ILT4 humano) y, de esta manera, en algunos casos, se puede unir al mismo epítipo en ILT4 (por ejemplo, ILT4 humano) como 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1. Como se

indicó anteriormente, los anticuerpos y fragmentos que se unen al mismo epítipo que cualquiera de los anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos de la presente invención también forman parte de la presente invención. En un modo de realización de la invención, se lleva a cabo BLI en un formato de tipo sándwich en el que un anticuerpo anti ILT4 o fragmento de unión a antígeno de referencia se inmoviliza en la sonda y, entonces, se une con ILT4. Entonces, se somete a prueba el anticuerpo anti ILT4 o fragmento de unión a antígeno de referencia para determinar la capacidad de bloquear la unión del anticuerpo o fragmento de referencia.

En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compite para unirse a ILT4 humano con un anticuerpo o fragmento que comprende las secuencias de aminoácido de cadena pesada y cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 1 y 3; 2 y 4; 2 y 5; 2 y 6; 2 y 7; 2 y 3; 8 y 11; 9 y 11; 10 y 11; 12 y 13; 14 y 15; 79 y 3; 80 y 4; 80 y 5; 80 y 6; 80 y 7; 80 y 3; 82 y 11; 83 y 11; 84 y 11; 85 y 13; y 86 y 15, respectivamente. En determinados modos de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo compite para unirse a ILT4 humano con un anticuerpo o fragmento que comprende las secuencias de aminoácido de cadena pesada y cadena ligera expuestas en SEQ ID NO: 63 y 70; 57 y 71; 57 y 72; 57 y 73; 57 y 58; 57 y 70; 64 y 74; 65 y 74; 66 y 74; 67 y 75; 68 y 76, respectivamente.

La presente invención incluye anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que comprenden glucanos unidos a N que se añaden típicamente a inmunoglobulinas producidas en células de ovario de hámster chino (glucanos unidos a N de CHO) o a células de levaduras genomanipuladas (glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas), tales como, por ejemplo, *Pichia pastoris*. Por ejemplo, en un modo de realización de la invención, los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden uno o más de los “glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas” o “glucanos unidos a N de CHO” que se exponen en la **figura 16** (por ejemplo, G0 y/o G0-F y/o G1 y/o G1-F y/o G2-F y/o Man5). En un modo de realización de la invención, los anticuerpos anti-ILT4 y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden los glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas, es decir, G0 y/o G1 y/o G2, opcionalmente, que incluyen adicionalmente Man5. En un modo de realización de la invención, los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos comprenden los glucanos unidos a N de CHO, es decir, G0-F, G1-F y G2-F, opcionalmente que incluyen adicionalmente G0 y/o G1 y/o G2 y/o Man5. En un modo de realización de la invención, aproximadamente de un 80 % a aproximadamente un 95 % (por ejemplo, aproximadamente un 80-90 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 % o aproximadamente un 95 %) de todos los glucanos unidos a N en los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos son glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas o glucanos unidos a N de CHO. Véase Nett *et al.* Yeast. 28(3): 237-252 (2011); Hamilton *et al.* Science. 313(5792): 1441-1443 (2006); Hamilton *et al.* Curr Opin Biotechnol. 18(5): 387-392 (2007). Por ejemplo, en un modo de realización de la

invención, una célula de levaduras genomanipuladas es GFI5.0 o YGLY8316 o las cepas expuestas en la patente de EE. UU. n.º 7.795.002 o Zha *et al.* Methods Mol Biol. 988:31-43 (2013). Véase también la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO2013/066765.

Polinucleótidos

La presente invención comprende polinucleótidos (por ejemplo, ADN o ARN) que codifican las cadenas de inmunoglobulina de anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos divulgados en el presente documento. Por ejemplo, la presente invención incluye los ácidos nucleicos que codifican las cadenas pesada y/o ligera de inmunoglobulina de los anticuerpos 1E1, 2A6, 3G7 y 2C1 (por ejemplo, las SEQ ID NO: 1-15, 44 y 45 o un dominio variable de las mismas) como se describe en el presente documento, así como los ácidos nucleicos con los que se hibridan.

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican un dominio variable de la cadena ligera de anticuerpo (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 1E1 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 19-21); y/o un dominio variable de la cadena pesada de anticuerpo (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 1E1 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 16-18).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican un dominio variable de la cadena ligera de anticuerpo (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 2A6 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 25-27); y/o un dominio variable de la cadena pesada de anticuerpo (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 2A6 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 22-24).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican un dominio variable de la cadena ligera de anticuerpo (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 3G7 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 31-33); y/o un dominio variable de la cadena pesada de anticuerpo (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 3G7 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 28-30).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican un dominio variable de la cadena ligera de anticuerpo (V_L) que comprende una CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de 2C1 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 37-39); y/o un dominio variable de la cadena pesada de anticuerpo (V_H) que comprende una CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de 2C1 (por ejemplo, que comprende los aminoácidos expuestos en las SEQ ID NO: 34-36).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican el dominio V_L del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58 o 77) y/o el dominio V_H del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 63, 57 o 69).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican el dominio V_L del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 74) y/o el dominio V_H del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 64, 65 o 66).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican el dominio V_L del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 75) y/o el dominio V_H del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 67).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican el dominio V_L del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 76) y/o el dominio V_H del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 68).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7 o 45) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 1E1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, 2 or 44).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 11) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 2A6 (por ejemplo, SEQ ID NO: 8, 9 o 10).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 13) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 3G7 (por ejemplo, SEQ ID NO: 12).

La presente invención incluye polinucleótidos que codifican la inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 15) y/o la inmunoglobulina de cadena pesada del anticuerpo 2C1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 14).

En un modo de realización específico, el polinucleótido comprende el conjunto de secuencias de nucleótidos expuestas en SEQ ID NO: 87. En otro modo de realización específico, el polinucleótido comprende el conjunto de secuencias de nucleótidos expuestas en SEQ ID NO: 88. En otro modo de realización más, el polinucleótido comprende el conjunto de secuencias de nucleótidos expuestas en SEQ ID NO: 87 y el conjunto de secuencias de nucleótidos expuestas en SEQ ID NO: 88.

La presente invención también proporciona vectores de expresión que comprenden los ácidos nucleicos aislados de la invención, en los que el ácido nucleico está unido operativamente a una o más secuencias de control, por ejemplo, que se reconocen por una célula huésped cuando la célula huésped se transfecta con el vector. También se proporcionan células huésped que comprenden un vector de expresión de la presente invención. En determinados modos de realización, la células huésped son células CHO.

Procedimientos de preparación de anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos

Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se pueden producir de manera recombinante. En este modo de realización, los ácidos nucleicos que codifican una o más

de las cadenas de inmunoglobulina de los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de la invención (por ejemplo, cualquiera de la SEQ ID NO: 1-15, 44, 45 o 79-86, o que comprende un V_H o V_L de 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1 como se expone en cualquiera de las SEQ ID NO: 57, 58, 63-77) se pueden insertar en un vector y/o en un cromosoma de la célula huésped y expresar en una célula huésped recombinante. Existen varios procedimientos para producir anticuerpos recombinantes que se conocen en la técnica.

Los anticuerpos (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1) se pueden recuperar del medio de cultivo usando procedimientos de purificación de proteínas estándar. Adicionalmente, se puede potenciar la expresión de las cadenas de inmunoglobulina de la invención a partir de líneas celulares de producción usando una serie de técnicas conocidas. Por ejemplo, el sistema de expresión génica de la glutamina sintetasa (el sistema GS) es un enfoque común para potenciar la expresión en determinadas condiciones. La presente invención incluye vectores que comprenden uno o más polinucleótidos que codifican una o más de dichas cadenas de inmunoglobulina y un gen glutamina sintetasa (GS). En un modo de realización de la invención, el vector está en una célula huésped que carece de glutamina sintetasa funcional. En un modo de realización de la invención, la célula huésped está en un medio de cultivo que carece sustancialmente de glutamina. Los procedimientos para preparar una o más de dichas cadenas de inmunoglobulina o un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprenden cultivar dicha célula huésped en medio de cultivo que carezca sustancialmente de glutamina están dentro del alcance de la presente invención, así como dichas cadenas, anticuerpos y fragmentos producidos mediante dicho procedimiento.

En general, las glucoproteínas producidas en una línea celular particular o animal transgénico tendrán un patrón de glucosilación que sea característico de las glucoproteínas producidas en la línea celular o animal transgénico. Por lo tanto, el patrón de glucosilación particular de una cadena de inmunoglobulina o anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que contenga una cadena de inmunoglobulina dependerá de la línea celular o animal transgénico particular usado para producir el anticuerpo. Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno con un patrón de glucosilación que comprende únicamente N-glucanos no fucosilados pueden ser ventajosos, porque estos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno han demostrado que presentan típicamente una eficacia más potente que sus equivalentes fucosilados tanto *in vitro* como *in vivo* (véase, por ejemplo, Shinkawa *et al.*, J. Biol. Chem. 278: 3466-3473 (2003); las patentes de EE. UU. n.^{os} 6.946.292 y 7.214.775). Estos anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1) con N-glucanos no fucosilados son parte de la presente invención.

La presente invención incluye adicionalmente fragmentos de anticuerpo de los anticuerpos anti-ILT4 divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1). Los fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos $F(ab)_2$, que se pueden producir mediante escisión enzimática de una IgG, por ejemplo, mediante pepsina. Se pueden producir fragmentos Fab, por ejemplo, por reducción de $F(ab)_2$ con ditiotritol o

mercaptoetilamina. Un fragmento Fab es una cadena V_L -CL unida a una cadena V_H -CH1 mediante un puente disulfuro. Un fragmento $F(ab)_2$ es dos fragmentos Fab que, a su vez, están unidos mediante dos puentes disulfuro. La porción Fab de una molécula $F(ab)_2$ incluye una porción de la región Fc entre la que se localizan los puentes disulfuro. Un fragmento FV es una región V_L o V_H .

La presente invención incluye anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1) que son de la clasificación IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. En un modo de realización, el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno comprende un V_H como se expone en el presente documento y una región constante de la cadena pesada, por ejemplo, una región constante humana, tal como la región constante de la cadena pesada humana $\kappa 1$, $\kappa 2$, $\kappa 3$ o $\kappa 4$ o una variante de la misma. En un modo de realización de la invención, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende una V_H como se expone en el presente documento y una región constante de la cadena ligera, por ejemplo, una región constante de la cadena ligera humana, como la región de cadena ligera humana lambda o kappa o variante de la misma. A modo de ejemplo, y no de limitación, la región constante de la cadena pesada humana puede ser $\kappa 1$ o $\kappa 2$ y la región constante de la cadena ligera humana puede ser kappa $\kappa 1$ o $\kappa 2$. A modo de ejemplo, y no de limitación, la región constante de la cadena pesada humana puede ser $\kappa 1$ o $\kappa 2$ y la región constante de la cadena ligera humana puede ser lambda $\lambda 1$ o $\lambda 2$. En un modo de realización de la invención, la región Fc del anticuerpo es $\kappa 4$ con una mutación Ser228Pro (Schuurman, J. *et al.*, Mol. Immunol. 38: 1-8, 2001).

En algunos modos de realización de la invención, se pueden añadir dominios constantes diferentes a las regiones V_L y V_H derivadas de las CDR proporcionadas en el presente documento. Por ejemplo, si un uso pretendido particular de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la presente invención requiriese funciones efectoras alteradas, se puede usar un dominio constante de la cadena pesada distinto de IgG1 humana o se puede utilizar IgG1/IgG4 híbrida. Dichos anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1) e híbridos de los mismos que comprenden dominios constantes de IgG1 e IgG4 son parte de la presente invención.

En un modo de realización, el dominio constante de IgG4 difiere del dominio constante de IgG4 humana natural (n.º de acceso a Swiss-Prot P01861.1) en una posición correspondiente a la posición 228 en el sistema de EU y la posición 241 en el sistema de KABAT, donde la Ser108 natural se reemplaza por Pro, a fin de prevenir un enlace disulfuro intercatenario potencial entre Cys106 y Cys109 (correspondiente a las posiciones Cys226 y Cys229 en el sistema de EU y las posiciones Cys239 y Cys242 en el sistema de KABAT) que podría interferir con la formación apropiada de enlaces disulfuro intracatenarios. Véanse Angal *et al.* (1993) Mol. Immunol. 30:105. En otros casos, se puede usar un dominio constante de IgG1 modificado que se ha modificado para incrementar la semivida o reducir la función efectora. Dichos anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión

a antígeno de los mismos (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1), que comprenden un dominio constante de IgG4 modificado son parte de la presente invención.

La presente invención incluye procedimientos recombinantes para preparar un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 o 2C1, o una cadena de inmunoglobulina del mismo, que comprende (i) introducir un polinucleótido que codifica una o más cadenas de inmunoglobulina del anticuerpo o fragmento (por ejemplo, que comprende una secuencia de aminoácidos que incluye una cualquiera o más de las secuencias expuestas en las SEQ ID NO: 1-15, 44 y/o 45), por ejemplo, en los que el polinucleótido está en un vector y/o está unido operativamente a un promotor (por ejemplo, un promotor vírico, un promotor de CMV o promotor de SV40); (ii) cultivar la célula huésped (por ejemplo, una célula huésped de mamífero, una célula huésped fúngica, una célula huésped bacteriana, una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula NSO, una célula SP2, una célula HeLa, una célula de riñón de cría de hámster (BHK), una célula de riñón de mono (COS), una célula de carcinoma hepatocelular humana (por ejemplo, Hep G2), una célula A549, una célula 3T3, una célula HEK-293, una célula de *Pichia* o una célula de *Pichia pastoris*) en condiciones favorables para la expresión del/de los polinucleótido(s) y (iii) opcionalmente, aislar el anticuerpo o fragmento o cadena de la célula huésped y/o medio en el que se cultiva la célula huésped. Cuando se prepara un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que comprende más de una cadena de inmunoglobulina, por ejemplo, un anticuerpo que comprende dos cadenas pesadas de inmunoglobulina y dos cadenas ligeras de inmunoglobulina, la coexpresión de las cadenas en una única célula huésped da lugar a la asociación de las cadenas, por ejemplo, en la célula o en la superficie celular o fuera de la célula, si dichas cadenas se secretan, para formar la molécula de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. Los procedimientos de la presente invención incluyen aquellos en los que se expresa únicamente una cadena pesada de inmunoglobulina o únicamente una cadena ligera de inmunoglobulina (por ejemplo, cualquiera de las analizadas en el presente documento, incluyendo fragmentos maduros y/o dominios variables de las mismas). Dichas cadenas son útiles, por ejemplo, como intermedios en la expresión de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno que incluye dicha cadena.

Genomanipulación de anticuerpos de la región Fc

Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de la presente invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden modificar para que incluyan modificaciones dentro de la región Fc, típicamente para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo, tales como la semivida en suero, la fijación del complemento, la unión al receptor Fc y/o la función efectora (por ejemplo, citotoxicidad celular dependiente de antígenos). Además, los anticuerpos y fragmentos divulgados en el presente documento se pueden modificar químicamente (por ejemplo, uno o más restos químicos se pueden unir al anticuerpo) o se pueden modificar para alterar su glucosilación,

de nuevo para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo. Cada uno de estos modos de realización se describe con más detalle a continuación. La numeración de residuos en la región Fc es la del índice EU de Kabat.

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también incluyen anticuerpos con regiones Fc modificadas (o bloqueadas) para proporcionar funciones efectoras alteradas. Véase, por ejemplo, la pat. de EE. UU. n.º 5.624.821; WO2003/086310; WO2005/120571; WO2006/0057702. Dicha modificación se puede usar para potenciar o suprimir diversas reacciones del sistema inmunitario, con posibles efectos beneficiosos en el diagnóstico y tratamiento. Las alteraciones de la región Fc incluyen cambios de aminoácidos (sustituciones, deleciones y/o inserciones), glucosilación o desglucosilación y la adición de múltiples dominios Fc. Los cambios en la Fc también pueden alterar la semivida de los anticuerpos en los anticuerpos terapéuticos, lo que posibilita una dosificación menos frecuente y, de esta manera, una comodidad incrementada y un menor uso de material. Véase Presta (2005) J. Allergy Clin. Immunol. 116:731 en 734-35.

En un modo de realización de la invención, el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) es un anticuerpo con isotipo IgG4 o fragmento que comprende una mutación de serina por prolina en una posición correspondiente a la posición 228 (S228P; índice de EU) en la región bisagra de la región constante de la cadena pesada. Se ha informado de que esta mutación suprime la heterogeneidad de los puentes disulfuro entre las cadenas pesadas en la región bisagra (Angal *et al.* supra, la posición 241 se basa en el sistema de numeración de Kabat).

En un modo de realización de la invención, la región bisagra de CH1 de un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se modifica de tal manera que el número de residuos de cisteína en la región de bisagra se incremente o disminuya (por ejemplo, en ± 1 , 2 o 3). Este enfoque se describe adicionalmente en la patente de EE. UU. n.º 5.677.425. El número de residuos de cisteína en la región bisagra de CH1 se altera, por ejemplo, para facilitar el ensamblaje de las cadenas ligera y pesada o para incrementar o disminuir la estabilidad del anticuerpo.

En otro modo de realización, la región bisagra Fc de un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se muta para disminuir la semivida biológica del anticuerpo. Más específicamente, se introducen una o más mutaciones de aminoácidos en la región de conexión de los dominios CH2-CH3 del fragmento Fc-bisagra de manera que el anticuerpo tenga una unión a proteína A estafilocócica (SpA) alterada con respecto a la unión de SpA al dominio Fc-bisagra natural. Este enfoque se describe con más detalle en la patente de EE. UU. n.º 6.165.745.

En otro modo de realización, el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se modifica para incrementar su semivida biológica. Son posibles diversos enfoques. Por ejemplo, se pueden introducir una o más de

las siguientes mutaciones: T252L, T254S, T256F, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 6.277.375. De manera alternativa, para incrementar la semivida biológica, el anticuerpo se puede alterar dentro de la región CH1 o CL para que contenga un epítipo de unión al receptor de rescate tomado de dos bucles de un dominio CH2 de una región Fc de una IgG, como se describe en las patentes de EE. UU. n.ºs 5.869.046 y 6.121.022.

En aún otros modos de realización, la región Fc se altera reemplazando al menos un residuo de aminoácido con un residuo de aminoácido diferente para alterar la(s) función/funciones efectora(s) del anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1). Por ejemplo, se pueden reemplazar uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 y 322 por un residuo de aminoácido diferente de tal manera que el anticuerpo tenga una afinidad alterada por un ligando efector pero retenga la capacidad de unión a antígeno del anticuerpo original. El ligando efector en el que se modifica la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor Fc o el componente C1 del complemento. Este enfoque se describe con más detalle en las patentes de EE. UU. n.ºs 5.624.821 y 5.648.260.

En otro ejemplo, se pueden reemplazar uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 329, 331 y 322 por un residuo de aminoácido diferente de tal manera que el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) tiene unión a C1q alterada y/o citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) reducida o suprimida. Este enfoque se describe con más detalle en la patente de EE. UU. n.º 6.194.551.

En otro ejemplo, uno o más residuos de aminoácidos dentro de las posiciones de aminoácidos 231 y 239 se alteran para alterar así la capacidad del anticuerpo para fijar el complemento. Este enfoque se describe con más detalle en la publicación PCT WO 94/29351.

En aún otro ejemplo, la región Fc se modifica para incrementar o disminuir la capacidad del anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) para mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o para incrementar o disminuir la afinidad del anticuerpo o fragmento por un receptor Fcγ modificando uno o más aminoácidos en las siguientes posiciones: 238, 239, 243, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 o 439. Este enfoque se describe con más detalle en la publicación PCT WO 00/42072. Además, los sitios de unión en IgG1 humana para FcγR1, FcγR2, FcγR3 y FcRn se han mapeado y se han descrito variantes con enlace mejorado (ver Shields *et al.* (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604). Las mutaciones específicas en las posiciones 256, 290, 298, 333, 334 y 339 demostraron que mejoraban la unión a FcR2. Adicionalmente, los siguientes mutantes de combinación

demonstraron que mejoraban la unión a FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A y S298A/E333A/K334A.

En un modo de realización, la región Fc se modifica para que disminuya la capacidad del anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) para mediar en la función efectora y/o incrementar las propiedades antiinflamatorias modificando los residuos 243 y 264. En un modo de realización, la región Fc del anticuerpo se modifica cambiando los residuos en las posiciones 243 y 264 por alanina. En un modo de realización, la región Fc se modifica para que disminuya la capacidad del anticuerpo para mediar en la función efectora y/o incrementar las propiedades antiinflamatorias modificando los residuos 243, 264, 267 y 328.

Modificaciones postraduccionales

En todavía otro modo de realización, el anticuerpo comprende un patrón de glucosilación particular. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ILT4 aglucosilado o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) que carezca de glucosilación es parte de la presente invención. El patrón de glucosilación de un anticuerpo o fragmento se puede alterar para, por ejemplo, incrementar la afinidad o avidéz del anticuerpo por un antígeno. Dichas modificaciones se pueden lograr, por ejemplo, alterando uno o más de los sitios de glucosilación dentro de la secuencia de anticuerpo o fragmento. Por ejemplo, se pueden realizar una o más sustituciones de aminoácidos que den como resultado la eliminación de uno o más de los sitios de glucosilación de la región estructural variable para eliminar así la glucosilación en ese sitio. Dicha aglucosilación puede incrementar la afinidad o avidéz del anticuerpo o fragmento por el antígeno. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.^{os} 5.714.350 y 6.350.861.

También se puede preparar un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) de la invención en el que el patrón de glucosilación incluya glucanos hipofucosilados o afucosilados, tales como anticuerpos hipofucosilados y fragmentos de unión a antígeno o anticuerpos afucosilados y fragmentos que tengan cantidades reducidas de residuos de fucosilo en el glucano. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno también puede incluir glucanos que tengan una cantidad incrementada de estructuras de GlcNac bisecantes. Dichos patrones de glucosilación alterados han demostrado que incrementan la capacidad de la ADCC de los anticuerpos. Dichas modificaciones se pueden lograr, por ejemplo, expresando el anticuerpo o fragmento en una célula huésped en la que la vía de glucosilación se haya genomanipulado para producir glucoproteínas con patrones de glucosilación particulares. Estas células se han descrito en la técnica y se pueden usar como células huésped en las que expresar anticuerpos recombinantes de la invención para producir así un anticuerpo con glucosilación alterada. Por ejemplo, las líneas celulares Ms704, Ms705 y Ms709 carecen del gen fucosiltransferasa, FUT8 (α (1,6)-fucosiltransferasa), de tal manera que los anticuerpos en las líneas celulares Ms704, Ms705 y Ms709 carecen de fucosa en sus

carbohidratos. La presente invención incluye anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno que carecen de fucosa o están producidos por una célula huésped que carece de FUT8. Se crearon las líneas celulares Ms704, Ms705 y Ms709 FUT8^{-/-} mediante la perturbación que selecciona como diana el gen *FUT8* en las células CHO/DG44 usando dos vectores de reemplazo (véanse las publicaciones de patente de EE. UU. n.º 20040110704 y Yamane-Ohnuki *et al.* (2004) *Biotechnol Bioeng* 87:614-22). Como otro ejemplo, el documento EP 1176195 describe una línea celular con un gen *FUT8* perturbado funcionalmente, que codifica una fucosiltransferasa, de tal manera que los anticuerpos expresados en dicha línea celular presentan hipofucosilación al reducir o eliminar la enzima relacionada con el enlace α -1,6. El documento EP 1.176.195 también describe líneas celulares que tienen una baja actividad enzimática para añadir fucosa a la N-acetilglucosamina que se une a la región Fc del anticuerpo o no tiene actividad enzimática, por ejemplo, la línea celular de mieloma de rata YB2/0 (ATCC CRL 1662). La publicación PCT WO 03/035835 describe una línea celular CHO variante, células Lec13, con capacidad reducida para unir fucosa a carbohidratos unidos a Asn (297), lo que también da como resultado la hipofucosilación de anticuerpos expresados en esa célula huésped (véase también Shields *et al.* (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740). Los anticuerpos con un perfil de glucosilación modificado también se pueden producir en huevos de gallina, como se describe en la publicación PCT WO 06/089231. De manera alternativa, se pueden producir anticuerpos con un perfil de glucosilación modificado en células vegetales, tales como Lemna (patente de EE. UU. 7.632.983). Los procedimientos para la producción de anticuerpos en un sistema vegetal se divulgan en las patentes de EE. UU. 6.998.267 y 7.388.081. La publicación PCT WO 99/54342 describe líneas celulares genomanipuladas para expresar glucosiltransferasas que modifican glucoproteínas (por ejemplo, β (1,4)-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII)) de tal manera que los anticuerpos expresados en las líneas celulares genomanipuladas presenten estructuras de GlcNac bisecantes incrementadas, lo que da como resultado una actividad de ADCC incrementada de los anticuerpos (véase también Umana *et al.* (1999) *Nat. Biotech.* 17:176-180). Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención que se producen mediante dichas células huésped son parte de la presente invención.

De manera alternativa, los residuos de fucosa del anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se pueden escindir usando una enzima fucosidasa; por ejemplo, la fucosidasa α -L-fucosidasa elimina los residuos de fucosilo de los anticuerpos (Tarentino *et al.* (1975) *Biochem.* 14:5516-23). La presente invención incluye anticuerpos y fragmentos que se han tratado con una enzima fucosidasa.

El anticuerpo anti-ILT4 o fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) divulgados en el presente documento incluyen adicionalmente los producidos en células huésped de eucariotas inferiores, en particular, células huésped fúngicas, tales como levaduras y hongos filamentosos se han genomanipulado para producir glucoproteínas que tienen patrones de glucosilación de tipo humano o mamífero (véase, por

ejemplo, Choi *et al.*, (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. 100: 5022-5027; Hamilton *et al.*, (2003) Science 301: 1244-1246; Hamilton *et al.*, (2006) Science 313: 1441-1443). Una ventaja particular de estas células huésped modificadas genéticamente sobre las líneas celulares de mamífero usadas actualmente es la capacidad de controlar el perfil de glucosilación de las glucoproteínas que se producen en las células de tal manera que se puedan producir composiciones de glucoproteínas en las que predomina una estructura de N-glucano particular (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 7.029.872 y la patente de EE. UU. n.º 7.449.308). Estas células huésped modificadas genéticamente se han usado para producir anticuerpos que tienen estructuras de N-glucano predominantemente particulares (véase, por ejemplo, *et al.*, (2006) Nat. Biotechnol. 24: 210-215).

Conjugados de anticuerpos

Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden conjugar con un péptido o resto químico. El resto químico puede ser, entre otros, un polímero, un radionúclido o un agente terapéutico o citotóxico. En modos de realización particulares de la invención, el resto químico es un polímero que incrementa la semivida de la molécula de anticuerpo en el cuerpo de un sujeto. Los polímeros incluyen, pero no se limitan a, polímeros hidrófilos que incluyen, pero no se limitan a, polietilenglicol (PEG) (por ejemplo, PEG con un peso molecular de 2k Da, 5 kDa, 10 kDa, 12k Da, 20 kDa, 30 kDa o 40 kDa), dextrano y monometoxipolietilenglicol (mPEG). Lee, *et al.*, (1999) (Bioconj. Chem. 10:973-981) divulga anticuerpos monocatenarios conjugados con PEG. Wen, *et al.*, (2001) (Bioconj. Chem. 12:545-553) divulgan la conjugación de anticuerpos con PEG, que se une a un quelante radiometálico (ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA)).

Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden conjugar con marcadores, tales como radiomarcadores. Los marcadores incluyen, pero no se limitan a, ^{99}Tc , ^{90}Y , ^{111}In , ^{32}P , ^{14}C , ^{125}I , ^3H , ^{131}I , ^{11}C , ^{15}O , ^{13}N , ^{18}F , ^{35}S , ^{51}Cr , ^{57}To , ^{226}Ra , ^{60}Co , ^{59}Fe , ^{57}Se , ^{152}Eu , ^{67}Cu , ^{217}Ci , ^{211}At , ^{212}Pb , ^{47}Sc , ^{109}Pd , ^{234}Th , y ^{40}K , ^{157}Gd , ^{55}Mn , ^{52}Tr y ^{56}Fe .

Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de anticuerpo divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden PEGilar (por ejemplo, con 1 PEG o una molécula de polímero de PEG de 3 kDa, 12 kDa o 40 kDa), por ejemplo, para incrementar su semivida biológica (por ejemplo, en suero). Para PEGilar un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, el anticuerpo o fragmento se hace reaccionar típicamente con una forma reactiva de polietilenglicol (PEG), tal como un derivado de aldehído o éster reactivo de PEG, en condiciones en las que uno o más grupos de PEG se unen al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno. En modos de realización particulares, la PEGilación se lleva a cabo por medio de una reacción de acilación o una reacción de alquilación con una molécula de PEG reactiva (o un polímero soluble en agua reactivo análogo). Como se usa en el presente documento, se pretende que el término

"polietilenglicol" abarque cualquiera de las formas de PEG que se han usado para derivatizar otras proteínas, tales como monoalcoxi- o arilo(C1-C10)polietilenglicol o polietilenglicol-maleimida. En determinados modos de realización, el anticuerpo que se va a PEGilar es un anticuerpo aglucosilado. Los procedimientos para PEGilar proteínas se conocen en la técnica y se pueden aplicar a los anticuerpos de la invención. Véanse, por ejemplo, los documentos EP 0 154 316 y EP 0 401 384.

Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden conjugar con marcadores fluorescentes o quimioluminiscentes, incluyendo fluoróforos, tales como quelatos de elementos de tierras raras, fluoresceína y sus derivados, rodamina y sus derivados, isotiocianato, ficoeritrina, ficocianina, aloficocianina, o-ftalaldehído, fluorescamina, ¹⁵²Eu, dansilo, umbeliferona, luciferina, marcador luminal, marcador isoluminal, un marcador de éster de acridinio aromático, un marcador de imidazol, un marcador de sal de acridinio, un marcador de éster de oxalato, un marcador de acurina, 2,3-dihidroftalazindionas, biotina/avidina, marcadores de espín y radicales libres estables.

Los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden conjugar con un factor citotóxico, tal como, toxina diftérica, cadena de la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa*, cadena A de ricina, cadena A de abrina, cadena A de modeccina, alfa-sarcina, proteínas y compuestos de *Aleurites fordii* (por ejemplo, ácidos grasos), proteínas diantina, proteínas PAPI, PAPII y PAP-S de *Phytolacca americana*, inhibidor de *Momordica charantia*, curcuma, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, mitogelina, restrictocina, fenomicina y enomicina.

Se puede emplear cualquier procedimiento conocido en la técnica para conjugar los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno con los diversos restos, incluyendo los procedimientos descritos por Hunter, *et al.*, (1962) *Nature* 144:945; David, *et al.*, (1974) *Biochemistry* 13:1014; Pain, *et al.*, (1981) *J. Immunol. Meth.* 40:219; y Nygren, J., (1982) *Histochem. and Cytochem.* 30:407. Los procedimientos para conjugar anticuerpos son convencionales y bien conocidos en la técnica.

Composiciones farmacéuticas y administración

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos pueden prepararse mezclando los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que tengan el grado deseado de pureza con opcionalmente vehículos, excipiente o estabilizantes fisiológicamente aceptables (véase, por ejemplo, Remington, *Remington's Pharmaceutical Sciences* 18.^a ed. 1980) en forma de soluciones acuosas o formas liofilizadas u otras secadas.

En un modo de realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2.

En otro modo de realización, la composición farmacéutica comprende: (i) un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada consiste en la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2, y (ii) pembrolizumab.

Las formulaciones de agentes terapéuticos y de diagnóstico se pueden preparar mezclando con vehículos, excipientes o estabilizadores aceptables en forma de, por ejemplo, polvos, suspensiones, soluciones acuosas o suspensiones liofilizados (véase, por ejemplo, Hardman, *et al.* (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, Nueva York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams y Wilkins, Nueva York, NY; Avis, *et al.* (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, *et al.* (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner y Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, NY).

La toxicidad y la eficacia terapéutica de las composiciones de anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1), administradas solas o en combinación con otro agente terapéutico, se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la DL₅₀ (la dosis letal para un 50 % de la población) y la DE₅₀ (la dosis eficaz en un 50 % de la población). La proporción de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico (DL₅₀/DE₅₀). En aspectos particulares, son deseables anticuerpos que presenten altos índices terapéuticos. Los datos obtenidos a partir de estos ensayos de cultivos celulares y estudios en animales se pueden usar en la formulación de un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de dichos compuestos se encuentra preferentemente dentro de un intervalo de concentraciones en circulación que incluyen la DE₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración.

En un modo de realización adicional, un agente terapéutico adicional que se administra a un sujeto en asociación con un anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpo completamente humano, tal como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se administra al sujeto de acuerdo con Physicians' Desk Reference 2003 (Thomson Healthcare; 57.º edición (1 de noviembre de 2002)).

El modo de administración puede variar. Las vías de administración incluyen oral, rectal, transmucosa, intestinal, parenteral; intramuscular, subcutánea, intradérmica, intramedular, intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraocular, inhalación, insuflación, tópica, cutánea, transdérmica o intrarterial.

La presente invención proporcionó procedimientos para administrar un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) que comprendieron introducir el anticuerpo o fragmento en el cuerpo de un sujeto. Por ejemplo, el procedimiento comprende perforar el cuerpo del sujeto con una aguja de una jeringuilla e inyectar el anticuerpo o fragmento en el cuerpo del sujeto, por ejemplo, en una vena, arteria, tumor, tejido muscular o hipodermis del sujeto.

La presente invención proporciona un recipiente (por ejemplo, un vial de plástico o vidrio, por ejemplo, con un tapón o una columna de cromatografía, una aguja hueca o un cilindro de jeringuilla) que comprende cualquiera de los anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) expuestos en el presente documento o una composición farmacéutica de los mismos que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un dispositivo de inyección que comprende cualquiera de los anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos de unión a antígeno (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) expuestos en el presente documento o una composición farmacéutica de los mismos. Un dispositivo de inyección es un dispositivo que introduce una sustancia en el cuerpo de un sujeto por medio de vía parenteral, por ejemplo, intramuscular, subcutánea o intravenosa. Por ejemplo, un dispositivo de inyección puede ser una jeringuilla (por ejemplo, precargada con la composición farmacéutica, tal como un autoinyector) que, por ejemplo, incluye un cilindro o émbolo para que contenga el fluido que se va a inyectar (por ejemplo, que comprende el anticuerpo o fragmento o una composición farmacéutica del mismo), una aguja para perforar la piel y/o vasos sanguíneos para la inyección del fluido; y un vástago para empujar el fluido fuera del cilindro y a través del orificio de la aguja. En un modo de realización de la invención, un dispositivo de inyección que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención o una composición farmacéutica del mismo es un dispositivo de inyección intravenosa (IV). Dicho dispositivo incluye el anticuerpo o fragmento o una composición farmacéutica del mismo en una cánula o trocar/aguja que se puede unir a un tubo que se puede unir a una bolsa o depósito para que contenga el fluido (por ejemplo, solución salina o solución de lactato de Ringer que comprende NaCl, lactato de sodio, KCl, CaCl₂ y que incluye opcionalmente glucosa) introducido en el cuerpo del sujeto a través de la cánula o trocar/aguja.

Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento también se pueden administrar con un dispositivo de inyección hipodérmica sin aguja; tal como los dispositivos divulgados en las patentes de EE. UU. n.^{os} 6.620.135; 6.096.002; 5.399.163; 5.383.851; 5.312.335; 5.064.413; 4.941.880; 4.790.824 o 4.596.556. Dichos dispositivos

sin aguja que comprenden la composición farmacéutica también son parte de la presente invención. Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento también se pueden administrar mediante infusión. Los ejemplos de implantes y módulos bien conocidos para administrar las composiciones farmacéuticas incluyen los divulgados en: la patente de EE. UU. n.º 4.487.603, que divulga una bomba de microinfusión implantable para distribuir medicación a una velocidad controlada; la patente de EE. UU. n.º 4.447.233, que divulga una bomba de infusión de medicación para administrar medicación a una velocidad de infusión precisa; la patente de EE. UU. n.º 4.447.224, que divulga un aparato de infusión implantable de flujo variable para la administración continua de fármaco; la patente de EE. UU. n.º 4.439.196, que divulga un sistema osmótico de administración de fármaco que tiene compartimentos de múltiples cámaras. Muchos de dichos implantes, sistemas de administración y módulos se conocen bien por los expertos en la técnica y los que comprenden las composiciones farmacéuticas de la presente invención están dentro del alcance de la presente invención.

Los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmentos de unión a antígeno de los mismos divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) se pueden proporcionar mediante infusión continua o mediante dosis administradas, por ejemplo, diariamente, 1-7 veces por semana, semanal, quincenal, mensual, bimensual, trimestral, semestral, anualmente, etc. Se pueden proporcionar dosis, por ejemplo, *por* vía intravenosa, subcutánea, tópica, oral, nasal, rectal, intramuscular, intracerebral, intraespinal o mediante inhalación. Una dosis eficaz de un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención es desde aproximadamente 0,05 mg/kg (peso corporal) a aproximadamente 30 mg/kg (peso corporal), por ejemplo, para el tratamiento o la prevención del cáncer o enfermedades infecciosas.

La determinación de la dosis apropiada se realiza por el médico, por ejemplo, usando parámetros o factores conocidos o que se sospecha en la técnica que afectan al tratamiento. Generalmente, al determinar la dosis, la dosis comienza con una cantidad algo menor que la dosis óptima y, entonces, se incrementa en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto deseado u óptimo con respecto a cualquier efecto secundario negativo. Las medidas de diagnóstico importantes incluyen las de los síntomas de, por ejemplo, la inflamación o el nivel de citocinas inflamatorias producidas. En general, es deseable que un producto biológico que se usará derive de la misma especie que el animal seleccionado como diana para el tratamiento, minimizando así cualquier respuesta inmunitaria al reactivo. En el caso de sujetos humanos, por ejemplo, pueden ser deseables anticuerpos quiméricos y completamente humanos. Están disponibles orientaciones para seleccionar las dosis apropiadas de anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos (véase, por ejemplo, Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.) (1991) *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, Nueva York, NY; Bach (ed.) (1993) *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel

Dekker, Nueva York, NY; Baert *et al.* (2003) New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgrom *et al.* (1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamon *et al.* (2001) New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminovitz *et al.* (2000) New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghosh *et al.* (2003) New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipsky *et al.* (2000) New Engl. J. Med. 343:1594-1602).

Si un síntoma de enfermedad se ha aliviado, se puede evaluar mediante cualquier medición clínica usada típicamente por los médicos u otros profesionales sanitarios cualificados para evaluar la gravedad o el estado de progresión de ese síntoma. Aunque un modo de realización de la presente invención (por ejemplo, un procedimiento de tratamiento o artículo de fabricación) puede no ser eficaz para aliviar el/los síntoma(s) de la enfermedad diana en cada sujeto, debería aliviar el/los síntoma(s) de la enfermedad diana en un número estadísticamente significativo de sujetos como se determina mediante cualquier prueba estadística conocida en la técnica, tal como la prueba de la *t* de Student, la prueba de la χ^2 , la prueba de la U de acuerdo con Mann y Whitney, la prueba de Kruskal-Wallis (prueba de la H), la prueba de onckheere-Terpstra y la prueba de Wilcoxon.

Usos terapéuticos de los anticuerpos anti-ILT4

La presente invención también proporciona procedimientos para tratar o prevenir el cáncer en sujetos, tales como sujetos humanos, que necesitan dicho tratamiento administrando una cantidad eficaz de los anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención que se divulgan en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) que pueden ser eficaces para dicho tratamiento o prevención.

En determinados modos de realización, el cáncer es un tumor sólido. En otros modos de realización, el cáncer es un cáncer hematológico. En determinados modos de realización, el cáncer es metastásico. En algunos modos de realización, el cáncer está en recaída. En otros modos de realización, el cáncer es resistente al tratamiento. En otros modos de realización más, el cáncer está en recaída y es resistente al tratamiento.

En algunos modos de realización, el cáncer es astrocitoma anaplásico, astrocitoma, cáncer de vejiga, cáncer de hueso, cáncer cerebral, cáncer de mama (por ejemplo, caracterizado por una mutación en BRCA1 y/o BRCA2), cáncer carcinoide, cáncer de cuello uterino, condrosarcoma, papiloma de los plexos coroides, cáncer colorrectal, cáncer endometrial, ependimoma, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, glioblastoma, cáncer de cabeza y cuello, hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular, mielofibrosis idiopática, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico), linfoma, meduloblastoma, melanoma, meningioma, cáncer de células de Merkel, mesotelioma, mieloma múltiple, neuroblastoma, oligodendroglioma, osteosarcoma, cáncer de ovario, cáncer pancreático, policitemia vera, tumor neuroectodérmico primitivo, cáncer de próstata, cáncer de células renales, cáncer de células de transición renal, retinoblastoma, tumor rabdoide del riñón,

rabdomiosarcoma, cáncer de glándulas salivales, sarcoma, cáncer de intestino delgado, sarcoma de partes blandas, carcinoma epidermoide (por ejemplo, carcinoma epidermoide cutáneo), sarcoma sinovial, trombocitemia, cáncer de tiroides, cáncer uterino, schwannoma vestibular o tumor de Wilms. En un modo de realización de la invención, el cáncer es cáncer metastásico, por ejemplo, de las variedades descritas anteriormente.

En un modo de realización de la invención, el cáncer es un tumor rico en mielocitos (por ejemplo, mesotelioma, cáncer de riñón, linfoma, sarcoma, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama, cáncer de vejiga, cáncer gástrico, cáncer de ovario o cáncer de tiroides; por ejemplo, véase, por ejemplo, Burt *et al.* Cancer. 117 (22):5234-44 (2011); Dannenmann *et al.* Oncoimmunology 2(3):e23562 (2013); Steidl *et al.* N. Engl. J. Med. 362:875-885 (2010); Fujiwara *et al.*, Am. J. Pathol. 179(3):1157-70 (2011); Bronkhorst *et al.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 52(2):643-50 (2011); Balermipas *et al.* Br. J. Cancer 111(8):1509-18 (2014); y Zhang *et al.* PLoS One 7(12):e50946 (2012)). Puesto que ILT4 se expresa principalmente por las células mieloides y granulocitos, y la infiltración de células mieloides en los tumores se asocia generalmente con un mal pronóstico debido a los efectos inmunodepresores de estas células que pueden antagonizar las respuestas antitumorales por los linfocitos T, el tratamiento con un anticuerpo anti ILT4 o fragmento de unión a antígeno de la presente invención beneficiará a los sujetos con una alta infiltración de células mieloides inmunodepresoras o mieloides.

Por lo tanto, en el presente documento se proporcionan procedimientos para tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende (a) la CDR-L1, CDR-L2 o CDR-L3 de un dominio variable de cadena ligera (V_L) de una cadena de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3-7, 11, 13, 15 o 45; y/o (b) la CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de un dominio variable de cadena pesada (V_H) de una cadena de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8-10, 12, 14, 44 o 79-86.

En un modo de realización de la invención, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: (1) un dominio V_H que comprende la región determinante de la complementariedad H1: (CDR-H1): GYYWS (SEQ ID NO: 16), región determinante de la complementariedad H2 (CDR-H2): EINHGXGSTNYNPSLKS en la que X es S o A (SEQ ID NO: 17); y región determinante de la complementariedad H3 (CDR-H3): LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o, un dominio V_L que comprende la región determinante de la complementariedad L1 (CDR-L1): TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), región determinante de la complementariedad L2 (CDR-L2): GX₁X₂NRPS; en la que X₁ es S o A y X₂ es N, Q, E o D (SEQ ID NO: 20); y región determinante de la complementariedad L3 (CDR-L3): QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21); (2) un dominio V_H que comprende CDR-H1: SYAIS

(SEQ ID NO: 22); CDR-H2: GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 23); y CDR-H3: YFX₁X₂SGWYKGGAFDI; en la que X₁ es D o S y X₂ es S o A (SEQ ID NO: 24); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TLRSGINVDTRYIH (SEQ ID NO: 25); CDR-L2: YKSDSDKHQGS (SEQ ID NO: 26); y CDR-L3: AIWYSSTWV (SEQ ID NO: 27); (3) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: SYAMH (SEQ ID NO: 28); CDR-H2: VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 29); y CDR-H3: VGEWIQLWSPFDY (SEQ ID NO: 30); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 31); CDR-L2: AASSLQS (SEQ ID NO: 32); y CDR-L3: QQYNSYPPT (SEQ ID NO: 33); y/o (4) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: ELSMH (SEQ ID NO: 34); CDR-H2: GFDPEDGETIYAQKFQG (SEQ ID NO: 35); y CDR-H3: AGPLYTIFGVVIIPDNWFDP (SEQ ID NO: 36); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 37); CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 38); y CDR-L3: QSYDSSLSGSGVV (SEQ ID NO: 39).

En un modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47), y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o, un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o, un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS (SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS (SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1:

TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS(SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS(SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS(SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS(SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS(SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS(SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1:

GYYSWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS (SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFNNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS (SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFNNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS (SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFNNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS (SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFNNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48), y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS (SEQ ID NO: 54), y CDR-L3: QSFNNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS (SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFNNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS (SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otros modos de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que la inmunoglobulina de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45; y/o la inmunoglobulina de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

En aún otros modos de realización más, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77; y/o el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

En más modos de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: cualquiera de los siguientes conjuntos de inmunoglobulinas de cadena pesada e inmunoglobulinas de cadena ligera: (1) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 13; (2) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 4; (3) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 5; (4) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 6; (5) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en

SEQ ID NO: 7; (6) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (7) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 8; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (8) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 9; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (9) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 10; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (10) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 12; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 13; (11) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 14; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 15; (12) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 79; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (13) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 4; (14) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 5; (15) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 6; (16) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7; (17) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (18) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 82; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (19) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 83; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (20) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 84; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (21) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende

la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 85; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 13; o (22) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 86; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 15.

En incluso más modos de realización, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: cualquiera de los siguientes conjuntos de dominio variable de cadena pesada y dominio variable de cadena ligera: (1) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70; (2) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 71; (3) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 72; (4) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 73; (5) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58; (6) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70; (7) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 64; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (8) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 65; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (9) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 66; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (10) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 67; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 75; u (11) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 68; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 76.

En un modo de realización preferente, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad

eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: un dominio V_H que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58.

En otro modo de realización preferente, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

En otro modo de realización preferente más, el procedimiento de tratar un cáncer en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

Se proporcionan además en el presente documento procedimientos de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende (a) la CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de un dominio variable de cadena ligera (V_L) de una cadena de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3-7, 11, 13, 15 o 45; y/o (b) la CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de un dominio variable de cadena pesada (V_H) de una cadena de inmunoglobulina que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8-10, 12, 14, 44 o 79-86.

En un modo de realización de la invención, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: (a) un dominio V_H que comprende: región determinante de la complementariedad H1 (CDR-H1): GYYWS (SEQ ID NO: 16), región determinante de la complementariedad H2 (CDR-H2): EINHGXGSTNYPNPSLKS en la que X es S o A (SEQ ID NO: 17); y región determinante de la complementariedad H3 (CDR-H3): LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: región determinante de la complementariedad L1 (CDR-L1): TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), región determinante de la complementariedad L2 (CDR-L2): GX₁X₂NRPS; en la que X₁ es S o A y X₂ es N, Q, E o D (SEQ ID NO: 20); región determinante de la complementariedad L3 (CDR-L3): QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21); (2) a dominio V_H que comprende: CDR-H1: SYAIS (SEQ ID NO: 22); CDR-H2: GIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 23); y CDR-H3: YFX₁X₂SGWYKGGAFDI; en la que X₁ es D o S y X₂ es S o A (SEQ ID NO: 24); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TLRSGINVDTRYIH (SEQ ID NO: 25); CDR-L2: YKSDSDKHQGS (SEQ ID NO: 26); y CDR-L3:

AIWYSSTWV (SEQ ID NO: 27); (3) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: SYAMH (SEQ ID NO: 28); CDR-H2: VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 29); y CDR-H3: VGEWIQLWSPFDY (SEQ ID NO: 30); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 31); CDR-L2: AASSLQS (SEQ ID NO: 32); y CDR-L3: QQYNSYPPT (SEQ ID NO: 33); y/o (4) un dominio V_H que comprende: CDR-H1: ELSMH (SEQ ID NO: 34); CDR-H2: GFDPEDGETIYAQKFQG (SEQ ID NO: 35); y CDR-H3: AGPLYTIFGVVIIPDNWFDP (SEQ ID NO: 36); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 37); CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 38); y CDR-L3: QSYDSSLGSGGVV (SEQ ID NO: 39).

En un modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47), y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 49), y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS (SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS (SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID

NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS(SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS(SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQANRPS(SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS(SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 47) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS(SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID

NO: 19), CDR-L2: GNSNRPS(SEQ ID NO: 49) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GQSNRPS(SEQ ID NO: 50) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GESNRPS(SEQ ID NO: 51) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDSNRPS(SEQ ID NO: 52) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En un modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GNANRPS(SEQ ID NO: 53) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID

NO: 19), CDR-L2: GQANRPS(SEQ ID NO: 54) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En otro modo de realización más, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GEANRPS(SEQ ID NO: 55) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otro modo de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16), CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y/o un dominio V_L que comprende: CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19), CDR-L2: GDANRPS(SEQ ID NO: 56) y CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

En aún otros modos de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que la inmunoglobulina de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45; y/o la inmunoglobulina de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

En aún otros modos de realización más, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: una inmunoglobulina de cadena ligera, una inmunoglobulina de cadena pesada, o ambas, una inmunoglobulina de cadena ligera y pesada, en el que el dominio variable de cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77; y/o el dominio variable de cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

En más modos de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: cualquiera de los siguientes conjuntos de

inmunoglobulinas de cadena pesada e inmunoglobulinas de cadena ligera: (1) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 1; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (2) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 4; (3) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 5; (4) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 6; (5) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7; (6) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (7) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 8; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (8) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 9; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (9) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 10; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (10) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 12; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 13; (11) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 14; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 15; (12) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 79; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (13) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 4; (14) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 5; (15) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 6; (16) una

inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7; (17) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 3; (18) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 82; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (19) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 83; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (20) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 84; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 11; (21) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 85; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 13; o (22) una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 86; una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 15.

En incluso más modos de realización, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: cualquiera de los siguientes conjuntos de dominio variable de cadena pesada y dominio variable de cadena ligera: (1) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 63; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70; (2) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 71; (3) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 72; (4) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 73; (5) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58; (6) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 70; (7) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de

aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 64; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (8) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 65; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (9) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 66; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 74; (10) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 67; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 75; u (11) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 68; un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 76.

En un modo de realización preferente, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende: un dominio V_H que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 57; y un dominio V_L que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 58.

En otro modo de realización preferente, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende::una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 2; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

En otro modo de realización preferente, el procedimiento de bloqueo de la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende::una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 80; y una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en SEQ ID NO: 7.

La presente invención también proporciona procedimientos para tratar o prevenir una enfermedad infecciosa en un sujeto administrando una cantidad eficaz de anticuerpos anti-ILT4 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) al sujeto que pueden ser eficaces para dicho tratamiento o prevención. En un modo de realización de la invención, la enfermedad infecciosa es una infección vírica. En un modo de realización de la invención, la enfermedad infecciosa es una infección bacteriana. En un modo de realización de la

invención, la enfermedad infecciosa es infección parasitaria. En un modo de realización de la invención, la enfermedad infecciosa es una infección fúngica.

La presente invención incluye procedimientos para tratar cualquiera de los cánceres o enfermedades infecciosas analizados en el presente documento administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) opcionalmente en asociación con cualquiera de los agentes antineoplásicos adicionales o procedimientos terapéuticos analizados en el presente documento, así como composiciones que incluyen dicho anticuerpo o fragmento en asociación con dicho agente antineoplásico adicional (por ejemplo, el anticuerpo o fragmento coformulado y el agente antineoplásico adicional).

Un “sujeto” es un mamífero, tal como, por ejemplo, un ser humano, perro, gato, caballo, vaca, ratón, rata, mono (por ejemplo, macaco cangrejero, por ejemplo, *Macaca fascicularis* o *Macaca mulatta*) o conejo.

En un modo de realización de la invención, un anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpo completamente humano, tal como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) está en asociación con un agente antineoplásico adicional, tal como un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. En un modo de realización de la invención, el agente antineoplásico adicional es un antiemético, eritropoyetina, GM-CSF, una vacuna, un anticuerpo anti-PD-L1 o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD-L2 o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo anti-PD1 o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, pembrolizumab o nivolumab), 5-fluorouracilo (5-FU), un compuesto de platino, bevacizumab, daunorrubicina, doxorubicina, temozolomida, topotecán, irinotecán, paclitaxel, docetaxel, imatinib y rituximab.

El término “en asociación con” indica que los componentes, un anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpo completamente humano, tal como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) junto con otro agente, tal como pembrolizumab o nivolumab, se pueden formular en una única composición, por ejemplo, para su administración simultánea, o formular por separado en dos o más composiciones (por ejemplo, un kit). Cada componente se puede administrar a un sujeto en un momento diferente de cuando se administra el otro componente; por ejemplo, se puede dar cada administración de manera no simultánea (por ejemplo, por separado o secuencialmente) en intervalos a lo largo de un periodo de tiempo dado. Además, los componentes separados se pueden administrar a un sujeto mediante la misma vía o una diferente (por ejemplo, en los que un anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, un anticuerpo completamente humano, tal como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1 se administra por vía parenteral y paclitaxel se administra por vía oral).

Ensayos y usos experimentales y de diagnóstico

La presente invención incluye cualquier procedimiento para formar un complejo entre un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención e ILT4 o un fragmento del mismo que comprenda poner en contacto el polipéptido de ILT4 o fragmento con el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno en condiciones adecuadas para la unión y la formación del complejo.

Los anticuerpos anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1), se pueden usar como agentes de purificación por afinidad. En este procedimiento, los anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos se inmovilizan en una fase sólida, tal como una resina de Sephadex, vidrio o agarosa o papel de filtro, usando procedimientos bien conocidos en la técnica. El anticuerpo o fragmento inmovilizado se pone en contacto con una muestra que contiene la proteína ILT4 (o un fragmento de la misma) que se va a purificar y, entonces, el soporte se lava con un disolvente adecuado que eliminará el material en la muestra, salvo la proteína ILT4 que se une al anticuerpo o fragmento inmovilizado. Finalmente, el soporte se lava con un disolvente que eluye el ILT4 unido (por ejemplo, proteína A). Dichos anticuerpos y fragmentos inmovilizados forman parte de la presente invención.

La presente invención incluye procedimientos ELISA basados en células que usan anticuerpos anti-ILT4 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la presente invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1). En un modo de realización de la invención, el procedimiento es para determinar si las células contienen ILT4 y el procedimiento incluye las etapas: (i) poner en contacto dichas células inmovilizadas en una superficie sólida (por ejemplo, una microplaca), que se van a analizar para determinar la presencia de ILT4, con un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención, (ii) opcionalmente, lavar la mezcla para eliminar el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento no unido, (iii) poner en contacto el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento con un anticuerpo secundario marcado o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une al anticuerpo anti-ILT4 o fragmento, (iv) opcionalmente lavar el complejo para eliminar anticuerpos o fragmentos no unidos y (v) detectar la presencia del marcador en el anticuerpo secundario o fragmento; en el que la detección del marcador indica que las células que contienen ILT4 están inmovilizadas en la superficie sólida.

La presente invención incluye ensayos ELISA (enzimoinmunoanálisis de adsorción) que incorpora el uso de un anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo divulgado en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1).

Por ejemplo, dicho procedimiento, para determinar si una muestra contiene ILT4 o un fragmento del mismo, comprende las siguientes etapas:

- (a) recubrir un sustrato (por ejemplo, superficie de un pocillo de placa de microtitulación, por ejemplo, una placa de plástico) con anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1);
- (b) aplicar una muestra que se va a someter a prueba para determinar la presencia de ILT4 al sustrato;
- (c) lavar el sustrato, de tal manera que se elimine el material no unido en la muestra;
- (d) aplicar anticuerpos marcados de manera detectable (por ejemplo, anticuerpos unidos a enzimas) que también son específicos para el antígeno ILT4;
- (e) lavar el sustrato, de modo que se eliminen los anticuerpos marcados no unidos;
- (f) detectar el marcador en los anticuerpos; si los anticuerpos marcados están unidos a enzimas, aplicar un producto químico que se convierta por la enzima en una señal detectable, por ejemplo, fluorescente; y

La detección del marcador, por ejemplo, asociado con el sustrato, indica la presencia de la proteína ILT4.

En un modo de realización de la invención, el anticuerpo marcado o fragmento de unión a antígeno del mismo se marca con peroxidasa que reacciona con ABTS (por ejemplo, ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) o 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina para producir un cambio de color que sea detectable. De manera alternativa, el anticuerpo o fragmento marcado se marca con un radioisótopo detectable (por ejemplo, ^3H) que se puede detectar mediante un contador de centelleo en presencia de un centelleador.

Se puede usar un anticuerpo anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas) o fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) en una inmunoelectrotransferencia o procedimiento de transferencia de inmunoproteínas. Dicho procedimiento forma parte de la presente invención e incluye, por ejemplo:

- (1) proporcionar una membrana u otro sustrato sólido que comprende una muestra que se va a someter a prueba para determinar la presencia de ILT4 o fragmento del mismo, por ejemplo, que incluye opcionalmente la etapa de transferir proteínas de una muestra que se va a someter a prueba para determinar la presencia de ILT4 (por ejemplo, de una separación electroforética por PAGE o SDS-PAGE de las proteínas en la muestra) a una membrana u otro sustrato sólido (por ejemplo, usando procedimientos conocidos en la técnica (por ejemplo, transferencia semiseca o transferencia en depósito)); y poner en contacto la membrana u otro sustrato sólido que se va a someter a prueba para determinar la presencia de ILT4 unido o un fragmento del mismo con un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1);

- (2) lavar la membrana una o más veces para eliminar el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento no unido y otras sustancias no unidas; y
- (3) detectar el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento unido.

Dicha membrana puede tomar la forma, por ejemplo, de una membrana de nitrocelulosa o basada en vinilo (por ejemplo, poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF)) a la que se han transferido las proteínas que se van a someter a prueba para determinar la presencia de ILT4 en un gel de PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida) no desnaturalizante o gel de SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio) (por ejemplo, después de la separación electroforética en el gel). Antes de poner en contacto la membrana con el anticuerpo anti-ILT4 o fragmento, la membrana se bloquea opcionalmente, por ejemplo, con leche desnatada en polvo o similar para unir sitios de unión a proteína no específicos en la membrana.

La detección del anticuerpo anti-ILT4 o fragmento unido indica que la proteína ILT4 está presente en la membrana o sustrato y en la muestra. La detección del anticuerpo o fragmento unido puede ser uniendo el anticuerpo o fragmento con un anticuerpo secundario (un anticuerpo antiinmunoglobulina) que se marca de manera detectable y, entonces, detectando la presencia del marcador del anticuerpo secundario.

Los anticuerpos anti-ILT4 (por ejemplo, anticuerpos completamente humanos, tales como anticuerpos completamente humanos antagonistas) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos divulgados en el presente documento (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1) también se pueden usar para inmunohistoquímica. Dicho procedimiento forma parte de la presente invención y comprende, por ejemplo,

- (1) poner en contacto células (por ejemplo, células de estirpe mieloide, tales como monocitos, macrófagos o células dendríticas) que se van a someter a prueba para determinar la presencia de proteína ILT4 con un anticuerpo anti-ILT4 o fragmento de unión a antígeno del mismo de la invención (por ejemplo, 1E1, 2A6, 3G7 y/o 2C1); y
- (2) detectar el anticuerpo o fragmento en o dentro de las células.

Si el anticuerpo o fragmento por sí mismo está marcado de manera detectable, se puede detectarse directamente. De manera alternativa, el anticuerpo o fragmento se puede unir por un anticuerpo secundario marcado de manera detectable en el que el marcador se detecta entonces.

Ejemplos

Se pretende que estos ejemplos ejemplifiquen la presente invención y no son una limitación de la misma. Las composiciones y procedimientos expuestos en los ejemplos forman parte de la presente invención.

Como se usa en el presente documento, el término “p1E1 (G1)” se refiere a un mAb 1E1 anti-ILT4 completamente humano que deriva de los genes V de la estirpe germinal, IGHV4-34*0 y IGLV1-40*01, respectivamente; que tiene los dominios constantes lambda humanos y de IgG1 humana.

>cadena pesada

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

(SEQ ID NO: 44)

>cadena ligera

QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNR
PSGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLG
QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTT
PSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 45)

Como se usa en el presente documento, “p1E1 (G4)” se refiere a un mAb 1E1 anti-ILT4 completamente humano (que tiene las mutaciones Q1E en la cadena pesada y Q1E en la cadena ligera) que deriva de los genes V de la estirpe germinal, IGHV4-34*0 y IGLV1-40*01, respectivamente; que tiene los dominios constantes lambda humanos y de IgG4 humana (S228P).

> cadena pesada

EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSG
STNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
K

(SEQ ID NO: 1)

> domino constant de IgG4 (S228P) humana

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE
PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 89)

> cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNSNRP
SGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLGQ
PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTP
SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 3)

> dominio constante de lambda humano

GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETT
TPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO:90)

Como se usa en el presente documento, “1E1 (G4)” se refiere a un mAb 1E1 anti-ILT4 completamente humano (que tiene las mutaciones Q1E y N53D en la cadena ligera y Q1E y S54A en la cadena pesada) que deriva de los genes V de la estirpe germinal. IGHV4-34*0 y IGLV1-40*01, respectivamente; que tiene los dominios constantes lambda humanos y de IgG4 humana (S228P).

> cadena pesada

EVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHAG
STNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARLPTRWVTTRYFDLW
GRGTLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKT
ISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
K

(SEQ ID NO: 2)

> cadena ligera

ESVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGDSNRP
SGVPDRFSVSKSGASASLAITGLQAEDEADYYCQSFDNSLSAYVFGGGTQLTVLGQ
PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTP
SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 7)

Ejemplo 1: Identificación y caracterización de anticuerpos anti-ILT4.

Generación e identificación de anticuerpos

El mAb humano precursor anti-ILT4 1E1 se identificó usando la plataforma RETROCYTE DISPLAY (Breous-Nystroma *et al.*, Methods 65(1): 57–67 (2014)). La

plataforma RETROCYTE DISPLAY utiliza la transferencia génica retrovímica de genes de anticuerpos humanos en prelinfocitos B de mamíferos para generar colecciones de presentación de anticuerpos de alta diversidad estables. La sangre del cordón umbilical humana que contenía linfocitos B vírgenes se usó como material de partida para las cadenas pesada y ligera de los anticuerpos. Las colecciones de anticuerpos celulares expresaban típicamente $> 10^8$ anticuerpos monoclonales humanos de longitud completa (isotipos hIgG1-4) diferentes en la superficie celular del prelinfocito B.

Se recopilaban paneles previos de anticuerpos a partir de resultados de anticuerpos identificados en 3 tandas de cribado con RETROCYTE DISPLAY. Los candidatos se enriquecieron basándose en la detección por FACS de la unión del antígeno ILT4 humano recombinante a los clones de linfocitos B. Se clasificaron los posibles clones de linfocitos B y se determinaron sus secuencias de anticuerpo. Entonces, se usaron estas secuencias para producir candidatos de anticuerpos y se confirmó la unión a ILT4 usando ensayos de unión a células transfectantes CHO a ILT4, sirviendo las células CHO precursoras como control negativo. Los candidatos también se cribaron de manera inversa para determinar la especificidad de ILT4 frente a miembros de la familia de ILT estrechamente relacionados (FACS de transfectantes en CHO de LILRA2, LILRA1 y ILT2 humano) y frente a los miembros de la familia de ILT mediante evaluación por citometría de flujo (LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA5, LILRA6, ILT2, ILT5 y ILT3).

Los anticuerpos monoclonales se sometieron a prueba adicionalmente para determinar su capacidad para unirse a transfectantes en CHO con ILT4 de macaco cangrejero (secuencia predicha de NCBI) por medio de FACS. Los más candidatos también se cribaron para determinar su capacidad para bloquear la unión del ligando de HLA-G Fc recombinante a la proteína ILT4 recombinante en ensayos basados en Luminex o en células CHO que expresan ILT4 en ensayos basados en FACS. La actividad funcional del anticuerpo candidato se evaluó mediante tres procedimientos: 1) Restablecimiento de la supresión de IL2 espontánea en linfocitos T 3A9 de ratón transfectados con ILT4; 2) Restablecimiento de la supresión dependiente de HLA-G de la desgranulación de los mastocitos estimulada por CD200RLa en transfectantes con ILT4 en WTMC de ratón; y 3) Modulación de citocinas en reacciones linfocitarias mixtas con PBMC completos.

Basándose en los criterios de cribado anteriores, se seleccionaron ocho anticuerpos anti-ILT4 (1E1, 1G2, 2A6, 2D5, 3E6, 3G7, 2C1 y 5A6) basándose en sus propiedades funcionales y biofísicas. Los anticuerpos se analizaron adicionalmente y se volvieron a evaluar en un conjunto de ensayos biofuncionales, biofísicos y fisicoquímicos. Los ensayos funcionales evaluaron el restablecimiento dependiente de la dosis mediado por anticuerpos de la supresión de IL-2 de las células 3A9 y la desgranulación de los mastocitos descrita anteriormente. Se realizaron ensayos de competición de ligando y bloqueo de ligando basados en células y Luminex y se determinaron las propiedades de unión y afinidades con el antígeno diana ILT4, antígenos no diana y subconjuntos de PBMC usando ensayos basados en Biacore y citometría de flujo, respectivamente. Los ensayos biofísicos evaluaron la

estabilidad de los anticuerpos (temperatura, pH) y la degradación y comportamiento de agregación. Se abordaron los motivos de modificación postraduccionales potenciales y las sensibilidades de secuencia a fin de excluir riesgos de producción de anticuerpos potenciales. Finalmente, se sometieron a prueba los candidatos en un estudio de regresión tumoral *in vivo* usando ratones humanizados expuestos a melanoma SKMEL5.

Propiedades biofísicas

Se realizaron estudios sobre la secuencia de 1E1 humano (cadena principal de IgG4 humana con mutación S228P) expresada transitoriamente en células CHO. 1E1 presentó las siguientes características físicoquímicas: el punto isoelectrico (IP) calculado y determinado experimentalmente fue respectivamente $\sim 7,29$ y $\sim 7,2$, el nivel de agregación (especies HMW) fue $< 5\%$, la T_f de inicio $> 60^\circ\text{C}$, $T_{f1} \sim 65,2^\circ\text{C}$, $T_{f2} \sim 78,8^\circ\text{C}$, y fue estable durante al menos 5 ciclos de congelación/descongelación. La secuencia de 1E1 originalmente tenía un sitio de N-glucosilación en V_H -CDR2 que se corrigió con éxito con la mutación S54A sin impacto negativo en la unión mediante BIACORE y en el ensayo funcional. Los estudios de estrés mostraron desamidación del residuo N53 en V_L -CDR3 ($> 13\%$ en condiciones de pH alto). N53 se corrigió con éxito (N53D) sin un impacto negativo en la unión y en un ensayo funcional (restablecimiento de la liberación de IL-2 a partir de transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 con 1E1). Ambos residuos Q de extremo N en V_H y V_L de 1E1 se mutaron a E (V_H -Q1E y V_L -Q1E) para reducir el riesgo de heterogeneidad debido a la desamidación. Los estudios de estrés realizados en la secuencia de 1E1 mutada (1E1 V_H Q1E, S54A/ V_L Q1E, N53D) S228P/lambda de IgG4) mostraron $\sim 17\%$ de oxidación del residuo W102 en V_H -CDR3 bajo oxidación forzada con AAPH (diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidinopropano)) a las 6 horas con un impacto mínimo en la unión y función. Se usa AAPH para forzar la oxidación de los residuos Trp y Met. En la misma condición, se detectó $\sim 8\%$ de oxidación de W7 en la región estructural de V_H sin impacto en la unión y función. Se detectó alrededor de un 8% de anticuerpo afucosilado mediante cartografía de péptidos. Este hallazgo podría estar asociado con la molécula que se expresa en células CHO transfectadas transitoriamente.

Cartografía de epítomos

El epítipo en ILT4 del clon de anticuerpo, p1E1 (G1), se identificó mediante espectrometría de masas de intercambio de hidrógeno-deuterio. El anticuerpo p1E1(G1) se mezcló previamente con el dominio extracelular etiquetado con histidina recombinante de ILT4, entonces, el complejo se incubó en tampón de deuterio. La cantidad de incorporación de deuterio se midió mediante espectrometría de masas. Los residuos de ILT4 LYREKKSASW (39 – 48 de ILT4 sin secuencia señal) (SEQ ID NO: 59) y TRIRPEL (50 – 56 de ILT4 sin secuencia señal) (SEQ ID NO: 60) y en menor medida NGQF (59-62 of ILT4 sin secuencia señal) (SEQ ID NO: 61) y HTGRYGCQ (71-78 of ILT4 sin secuencia señal) (SEQ ID NO: 62) se identificaron como los que mostraron la diferencia más grande

en el marcaje con deuterio en comparación con una muestra de antígeno únicamente, lo que indica que es probable que sean los residuos que interactúan con p1E1 (G1) (**Figura 1**). Estos péptidos están en el dominio 1 de ILT4. Otros péptidos en el dominio 1 y 2 que mostraron menos diferencias en el marcaje con deuterio probablemente estén protegidos debido a la estabilidad conformacional tras la unión al anticuerpo. No se observaron diferencias significativas en el marcaje en los dominios 3 y 4.

Cuando se cartografían en la estructura cristalina de ILT4 humano, los residuos protegidos por p1E1(G4) forman un epítipo conformacional no lineal que comprende tres hebras beta y un bucle (**figura 2A**).

ILT4 utiliza dos interfaces de unión para conectar con su ligando HLA-G (Shiroishi *et al*, 2006): sitio 1 para la unión de beta-2-microglobulina, situado en el dominio 2 de ILT4, y sitio 2 para la unión de la cadena pesada de HLA-G, situado en el dominio 1 de ILT4 (**figura 2B**). El sitio 1 incluye residuos de ILT4 Trp-67, Asp-177, Asn-179 y Val-183 (numeración de acuerdo con Shiroishi *et al*, 2006). El sitio 2 incluye residuos de ILT4 Arg-36, Tyr-38, Lys-42, Ile-47 y Thr-48 (numeración de acuerdo con Shiroishi *et al*, 2006). Los datos de HDX-MS de esta aplicación demuestran que Tyr-38, Lys-42 y Thr-48 (numeración de acuerdo con Shiroishi *et al*, 2006) forman parte del epítipo p1E1(G1) en el dominio 1 de ILT4 como residuos Tyr-40, Lys-44 y Thr-50 de ILT4 humano (**figura 2A**). Esto indica que el epítipo humano ILT4 unido por p1E1(G1) se superpone con el epítipo del sitio 2 unido por el ligando de HLA-G.

Ejemplo 2: Propiedades de afinidad, unión y bloqueo del mAb anti-ILT4 1E1

Afinidades de unión de 1E1(G4) y HLA-G1 a ILT4 humano determinadas por resonancia de plasmón superficial (SPR).

Se evaluó la unión de 1E1(G4) y HLA-G1 Fc (dominio extracelular recombinante de HLA-G (isoforma 1) fusionados al dominio Fc de IgG1 humana para preparar proteína HLA-G1 soluble) a ILT4-His (dominio extracelular recombinante de ILT4 humano fusionado a una etiqueta de polihistidina para preparar proteína ILT4 soluble) por medio de Biacore. Se capturó 1E1(G4) o HLA-G1 Fc en un chip Biacore por medio de captura de Fc. Entonces, se sometió a prueba ILT4-His monomérico para determinar la unión y los datos indicaron que 1E1(G4) se unió a ILT4-His con una afinidad 600 veces mayor que HLA-G1 Fc (**tabla 3**).

Tabla 3. ILT4-His se une a 1E1(G4) con una afinidad 600 veces mayor que HLA-G1 Fc La cinética de unión 1:1 y los análisis de estado estacionario indican diferencias de 630 y 670 veces.

n	Ligando	ka (1/M ⁻¹ s ⁻¹)	kd (1/s)	K _D (M)	Proporción K _D
2	1E1 (G4)	5,5E+05	9,0E-03	1,7E-08	1
2	HLA-G1 Fc	1,1E+05	1,1E+00	1,1E-05	630

	(Cinética)				
	HLA-G1 Fc (SSA)	-	-	1,1E-05	670

Se usó un ensayo de resonancia de plasmón superficial (SPR) en un instrumento Biacore T200 (GE HEALTHCARE) para determinar las afinidades monovalentes del mAb IgG4 anti-ILT4 humano (1E1(G4)) y la fusión HLA-G1 Fc (HLA-G1-Fc) frente a ILT4 humano etiquetado con polihistidina (ILT4-His). Se capturó la proteína de fusión Fc o mAb en un chip sensor CM5 preparado usando un kit de captura de Fc humano (GE HEALTHCARE) y se inyectó una serie de concentraciones de titulación de ILT4-His en esta superficie. El programa informático de evaluación Bicaroe T200 se usó para ajustar cada serie de titulaciones a un modelo de unión 1:1. Las constantes de velocidad de asociación (k_a , $M^{-1} s^{-1}$) y disociación (k_d , s^{-1}) se determinaron para cada conjunto de titulaciones y se usaron para calcular la constante de disociación, K_D (M) = k_{off}/k_{on} , para cada titulación. Como se muestra en la tabla 1, las afinidades monovalentes (K_D) de mAb 1E1(G4) y HLA-G1-Fc frente a ILT4-His humano fueron 17 nM y 11 uM, respectivamente, con una diferencia de 630 veces indicada por la proporción K_D . Debido a las constantes de cinética k_a y k_d rápidas, también se usó la aproximación al estado estacionario (SSA) para confirmar la baja afinidad de HLA-G1-Fc por ILT4-His.

Bloqueo de la unión de HLA-G a transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 con 1E1(G4)

Los transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 se pretrataron con 1E1(G4) o control de isotipo a diversas dosis, seguido de detección secundaria de 1E1(G4) (**figura 3A**) o mediante tratamiento con una concentración fija de quimera de HLA-G1 Fc biotinilado para evaluar la capacidad de 1E1(G4) para bloquear el ligando afín (**figura 3B**). 1E1(G4) y HLA-G Fc se detectaron mediante citometría de flujo. Los datos muestran que 1E1(G4) bloqueaba la unión a HLA-G1 Fc de una manera dependiente de la dosis.

Ensayos de competencia y bloqueo de ligando basados en Luminex y celulares

Se sometieron a prueba anticuerpos 1E1, 2A6, 2C1 y 3G7 en ensayos de competencia y bloqueo de ligando basados en Luminex y celulares para determinar su potencial de inhibir la interacción de HLA-G dimérico con antígeno ILT4 acoplado a perlas o expresado por células CHO/ILT4+.

Los ensayos de competencia y bloqueo de ligando basados en Luminex emplearon antígeno de IL4 humano ligado químicamente a perlas Luminex. En el ensayo de bloqueo, las perlas se preincubaron con un intervalo de dosis (0,5-9000 ng/ml en diluciones sucesivas 1:3) de variantes de hIgG4 del anticuerpo anti-ILT4 1E1, 2A6, 2C1 o 3G7. El antígeno de ILT4 unido a perlas se sometió entonces a prueba para su unión a la proteína de fusión HLA-G/Fc biotinilada soluble a una concentración de 50 nM. En el ensayo de competencia basado en ligandos Luminex, las perlas Luminex unidas a antígeno se

preincubaron con proteína de fusión HLA-G/Fc biotinilada soluble a una concentración de 50 nM antes de ajustes de la dosis (0,5-9000 ng/ml en diluciones sucesivas 1:3) de variantes de hIgG4 del anticuerpo anti-ILT4 1E1, 2A6, 2C1 o 3G7. En ambas configuración de ensayo, la interacción ILT4:HLA-G se detectó con un anticuerpo anti-estreptavidina-PE y se determinaron los valores de CI₅₀. Todos los anticuerpos sometidos a prueba mostraron un bloqueo dependiendo de la dosis de la unión de HLA-G a la ILT4/Fc unida a perlas Luminex y los valores de CI₅₀ se resumen en la tabla 4. Todos los anticuerpos sometidos a prueba mostraron también una competencia dependiente de la dosis con HLA-G por la unión a ILT4/Fc unida a perlas Lumnex (datos no mostrados).

Tabla 4 Ensayo de bloqueo de ligando Luminex

Anticuerpo	CI50 (ng/ml)
1E1	19,2
2A6	17,7
2C1	10,2
3G7	40,0

Los ensayos celulares de competencia y bloqueo de ligandos siguieron un principio similar al descrito para los ensayos basados en Luminex y utilizaron una línea de células CHO/ILT4 para la expresión en superficie del antígeno. En el ensayo de bloqueo, las células se preincubaron con el anticuerpo sometido a prueba usando un intervalo de dosis de 1-20 000 ng/ml en diluciones sucesivas 1:3. Los antígenos de ILT4 se sometieron entonces a prueba para la unión a proteína de fusión HLA-G/Fc biotinilada soluble a una concentración de 5 µg/ml. El ensayo de competencia empleó una configuración inversa. Las células se preincubaron con proteína de fusión HLA-G/Fc biotinilada soluble a una concentración de 5 µg/ml antes de que se añadieran los ajustes de dosis del anticuerpo sometido a prueba en un interval de 1-20 000 ng/ml en diluciones sucesivas 1:3. La interacción ILT4:HLA-G se detectó con un anticuerpo anti-estreptavidina-PE. Todos los anticuerpos sometidos a prueba mostraron un bloqueo dependiente de la dosis de la unión de HLA-G a ILT4 expresado en CHO y los valores de CI₅₀ se resumen en la **tabla 5**. Todos los anticuerpos sometidos a prueba también mostraron una competencia dependiente de la dosis con HLA-G por la unión a ILT-4 expresado en CHO (datos no mostrados).

Tabla 5 Ensayo celular de bloqueo de ligando

Anticuerpo	CI50 (ng/ml)
1E1	98,4
2A6	232,6
2C1	56,1
3G7	374,3

Bloqueo de la unión de ligando para CPH de clase I distinto de HLA-G a los transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 con p1E1(G1)

Los transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 se pretrataron con control de isotipo para hIgG1 o p1E1(G1) en diversas dosis, seguido de tratamiento con una concentración fija de tetrámeros de HLA-F o CD1d o dexámeros de HLA-A02:01 o HLA*B7:02 marcados con fluorocromo para evaluar la capacidad de p1E1(G1) para bloquear ligandos para CPH de clase I distinto de HLA-G. La unión de HLA-A, HLA-B y HLA-F a ILT4 se inhibió mediante p1E1(G1) de una manera titulable con respecto a la dosis (figura 4), indicando la capacidad de p1E1(G1) para bloquear otros ligandos para CPH de clase I informados.

Bloqueo de la unión de ANGPTL a los transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 con p1E1(G1)

Recientemente se informó que las proteínas de tipo angiopoyetina (ANGPTL) se unen a ILT4 expresado por hemocitoblastos humanos (Zheng *et al.*, Nature. 30 de mayo de 2012;485(7400):656-60 y Deng *et al.* Blood. 7 de agosto de 2014;124(6):924-35). Para someter a prueba si p1E1 (G1) podría bloquear la unión del miembro de la familia de ANGPTL a ILT4, se adquirieron proteínas ANGPTL o fragmentos de proteínas disponibles comercialmente y se sometieron a prueba para determinar la unión a transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 que se pretrataron con p1E1 (G1). Los datos de unión indican que ANGPTL1, 4 y potencialmente 7 se podrían unir a ILT4 y no a células de control de vector a la concentración de proteína sometida a prueba. p1E1(G1) pudo bloquear completamente la unión de la proteína ANGPTL a una dosis de saturación (**figura 5**).

Unión de especificidad a la familia de ILT de 1E1(G4) a transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT humano

La unión de especificidad de la familia de ILT de 1E1(G4) a miembros de la familia de ILT humano se evaluó mediante citometría de flujo basada en células usando líneas de linfocitos T 3A9 transfectados para expresar ILT4, ILT2, ILT3 (dos variantes), ILT5, LILRB5, LILRA1, LILRA2, ILT7, ILT8 o bien ILT11 humanos. 1E1(G4) se unió específicamente a ILT4 humano y no tuvo reactividad cruzada con ningún otro miembro de la familia de ILT sometido a prueba (**figura 6A y 6B**).

Ejemplo 3: Bioactividad del mAb anti-ILT4 1E1 en células principales y genomanipuladas

Capacidad de 1E1(G4), 2A6, 2C1 y 3G7 para invertir la supresión de interleucina 2 en ensayos basados en células 3A9 con ILT4 genomanipuladas

Se usó un anticuerpo anti-CD3 para estimular los linfocitos T 3A9 de ratón de control dando como resultado un incremento de la liberación de IL-2. Por el contrario, los transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT4 no pudieron expresar IL-2 en presencia de estimulación de CD3, posiblemente debido a reactividad cruzada con ILT4 con moléculas de CPH de clase I de ratón o a través de xenoligando(s) no conocido(s). Esta interacción

pareció dar lugar a la multimerización/activación espontánea del receptor de ILT4, lo que dio como resultado la supresión de la liberación de IL-2 mediada por anti-CD3. En consecuencia, los anticuerpos que se unen funcionalmente a ILT4 y bloquean la interacción de ILT4 con el/los xenoligando(s) y/o inhiben la multimerización del receptor deberían restablecer la liberación de IL.

1E1(G4), 2A6, 2C1 y 3G7 se sometieron a prueba para mediar en la liberación de IL-2 de transfectantes de linfocitos T 3A9 de ratón con ILT4. Se añadió 1E1(G4), 2A6, 2C1 o 3G7 a transfectantes de linfocitos T 3A9 de ratón con ILT4+ y se midió la liberación de IL-2 fotométricamente mediante ELISA después de 24 horas de estimulación celular mediada por anti-CD3. La curva representativa de respuesta a la dosis de 1E1(G4) se muestra en la **figura 7**. Se determinaron los valores de CE₅₀ de los anticuerpos sometidos a prueba a partir de las curvas de respuesta a la dosis y se muestran en la **tabla 6**.

Tabla 6 Ensayo de represión de IL-2

Anticuerpo	CE50 (□g/ml)
1E1	0,43
2A6	1,2
2C1	0,24
3G7	0,26

Ensayo de desgranulación de células de ratón WTMC (mastocitos naturales) (únicamente cualitativo)

p1E1(G4) y 1E1(G4) se sometieron a prueba para determinar el restablecimiento de la desgranulación de los mastocitos dependiente de ILT4:HLA-G. Los mastocitos de ratón WTMC se transfectaron con ILT4 humano y se estimularon con anticuerpo unido a placa producido frente a CD200RLa. La reticulación mediada por anticuerpos de CD200RLa dio lugar a la desgranulación de los mastocitos mediante la activación de los motivos ITAM encontrados en el dominio intracelular de CD220RLa. La desgranulación se puede medir colorimétricamente sometiendo a ensayo la liberación del contenido de gránulos en los sobrenadantes del ensayo. En presencia de tetrámero de HLA-G unido a placa, la desgranulación de los mastocitos mediada por CD200RLa se inhibió en los transfectantes con ILT4. El pretratamiento de los transfectantes WTMC con ILT4 con p1E1(G4) o 1E1(G4) antes de la estimulación con anti-CD200RLa y tetrámero de HLA-G unidos a placa invirtió la inhibición de la desgranulación de una manera titulable con respecto a la dosis (**figura 8**).

Efecto de 1E1(G4) sobre la secreción de citocinas derivadas de mielocitos por células mononucleares de sangre periférica humana principales (PBMC)

Evaluación de 1E1(G4) en ensayos de estimulación con LPS de PBMC principales humanos

Se informó de que la expresión de TNF α , una citocina proinflamatoria derivada de mielocitos prototípica, se expresaba por monocitos que expresaban niveles bajos de ILT4 cuando se estimulaban con LPS. Los monocitos con alta expresión de ILT4 no expresaban tanto TNF α , y se descubrió que la ausencia de expresión de ILT4 era una característica distintiva de los monocitos aislados de pacientes con artropatía psoriásica (Bergamini *et al.*, PLoS One. 27 de marzo de 2014;9(3):e92018). La expresión de ILT4 en monocitos podía inhibir la actividad efectora de las células mieloides y antagónizar la inducción de citocinas proinflamatorias (por ejemplo, TNF α) en presencia de estímulos proinflamatorios (por ejemplo, LPS). Como tales, se trataron PBMC completos aislados de donantes humanos sanos con LPS y se evaluó la capacidad del antagonismo de ILT4 para potenciar la expresión de citocinas mieloides proinflamatorias con 1E1 (G4). Las **figuras 9A y 9B** muestran los datos de uno de tres experimentos con 3 donantes cada uno, que demuestran que 1E1(G4) potenció la expresión dependiente de LPS tanto de GM-CSF como de TNF α (ambas citocinas de origen mieloide) de una manera titulable con respecto a la dosis.

Evaluación de 1E1(G4) en ensayos de estimulación con anti-CD3 de PBMC principales humanos

Para evaluar si el tratamiento con 1E1(G4) podría potenciar la expresión de citocinas efectoras mieloides o linfocitos T en presencia de un estímulo de linfocitos T subóptimo, los PBMC aislados de donantes humanos sanos se trataron con anti-CD3 para inducir la proliferación de linfocitos T, y se evaluó la capacidad del antagonismo de ILT4 para modificar la expresión de citocinas con 1E1 (G4). Las **figuras 10A y 10B** muestran los datos de uno de tres experimentos, con 3 donantes cada uno, que demuestran que 1E1(G4) potenció la expresión dependiente de anti-CD3 de GM-CSF y TNF α de una manera titulable con respecto a la dosis.

Ejemplo 4: Eficacia antitumoral de anticuerpos anti-ILT4 en el modelo de tumor SK-MEL-5 de ratón humanizado

Eficacia antitumoral de 1E1, 2A6, 2C1 y 2D5 en el modelo de tumor de ratón humanizado

Los anticuerpos 1E1, 2A6, 2C1 y 2D5 se sometieron a prueba en un ensayo de regresión tumoral *in vivo*. Se inocuaron ratones humanizados (ratones NSG reconstituidos con células madre hematopoyéticas humanas para establecer la constitución de células inmunitarias humanas) con 1×10^6 células de melanoma SKMEL5 (clase HLA A*02_01) y se monitorizó el crecimiento tumoral hasta que se observó un tamaño medio de 150 mm³ después de aproximadamente 35 días. Se administró a siete grupos aleatorizados de ratones, cada uno de los cuales contenía seis animales, anticuerpo de control de isotipo (hIgG1 + hIgG4, 20 mg/kg de cada), 0 20 mg/kg de uno de los dos siguientes anticuerpos anti-ILT4: 1E1-IgG1, 1E1-IgG1 (N297Q) (Fc con mutación anuladora), 1E1-IgG4, 2A6-IgG4, 2C1-

IgG4 y 2D5-IgG4. Se administró la dosis a los ratones cada siete días (día 35, 42 y 49; total de tres dosis) y el tamaño del tumor se midió hasta el día 63. Los resultados indicaron una reducción del crecimiento tumoral en los ratones tratados con 1E1 (IgG1, IgG1-(N297Q), IgG4), 2A6-IgG4 y 2D5-IgG4 en comparación con los animales a los que se administró el control de isotipo (**figura 17**). En cambio, los ratones tratados con el isotipo de control o el candidato anti-ILT4 2C1 no consiguieron demostrar una reducción del crecimiento tumoral.

Eficacia antitumoral de p1E1(G4) en el modelo de tumor de ratón humanizado

Se desarrolló un modelo tumoral de ratón humanizado para someter a prueba la eficacia *in vivo* de p1E1(G4) frente a la inhibición del crecimiento tumoral. Se reconstituyeron ratones NSG inmunodeficientes con hemocitoblastos humanos. Después de confirmar que los ratones albergaban células inmunitarias CD45⁺ humanas periféricas (≥ 25 % de PBMC), se inocularon con células tumorales SK-MEL-5, una línea tumoral derivada de melanoma de piel humana. Estas células se seleccionaron por su expresión genética de HLA-G. Después de la inoculación, se dejó que los tumores crecieran hasta un tamaño aproximado de 150 mm³. Los ratones se asignaron al azar en grupos y se expusieron a control de isotipo para hIgG4 o bien p1E1(G4).

Los ratones tratados con p1E1(G4) presentaron una inhibición del crecimiento tumoral a lo largo del transcurso del estudio (**figura 11A**). Se observó una regresión completa y una parcial con p1E1(G4) (**figura 11C**).

Eficacia antitumoral de 1E1(G4) en el modelo de tumor de ratón humanizado

La actividad antitumoral de 1E1(G4) se sometió a prueba en el modelo de tumor SK-MEL-5 de ratón humanizado. En este modelo, se someten a radiación ratones NSG inmunocomprometidos (NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ) y se les inyectan células madre hematopoyéticas CD34⁺ aisladas de sangre de cordón umbilical. Varios meses después del injerto, pueden detectarse células inmunitarias humanas en la sangre del ratón. A continuación, se implantó a los ratones por vía subcutánea (s.c.) la línea de células SK-MEL-5 derivada de melanoma humano.

Para este estudio, a los ratones a los que se habían trasplantado cuando tenían de 3 a 4 semanas de edad células CD34⁺ derivadas de sangre de cordón umbilical de 3 donantes distintos se les inyectó por vía s.c. 1×10^6 células SK-MEL-5 a aproximadamente las 20 semanas de edad. Los ratones NSG humanizados portadores de tumores SK-MEL-5 fueron asignados a 2 grupos de tratamiento a razón de 6 ratones por grupo (3 ratones de cada cohorte de donantes de CD34⁺ humanas por grupo de tratamiento) cuando el tamaño medio del tumor era de aproximadamente 100 mm³, 21 días después de la inoculación del tumor (aleatorización del tumor D0). A los ratones portadores de tumores se les inyectó por vía s.c. 20 mg/kg de 1E1(G4) o un mAb de control de isotipo hIgG4 cada 7 días para

4 dosis. Se monitorizaron los volúmenes tumorales cada 7 días después del inicio del tratamiento.

La eficacia antitumoral en el grupo de tratamiento con 1E1(G4) fue significativamente mayor que en el grupo de control de isotipo ($p \leq 0,001$ desde el día 28 hasta el día 49) (**figura 12A**). El peso del tumor al final del ensayo en los ratones tratados con 1E1(G4) era menor que en los ratones tratados con isotipo (**figura 12C**). En general, los resultados revelaron una eficacia antitumoral significativa de 1E1(G4) con 20 mg/kg en el modelo de tumor SK-MEL-5 de ratón humanizado. No se observó ningún efecto en el peso corporal (**figura 12B**) ni el peso del bazo (**figura 12D**) con el tratamiento con 1E1(G4).

Ejemplo 5: Unión de haplotipos de ILT4 de 1E1 (G4) a transfectantes de linfocitos T 3A9 con ILT humano

Se usaron los datos de polimorfismos mononucleotídicos a partir de fuentes disponibles públicamente (fase 3 del proyecto 1000 genomas) para determinar las frecuencias alélicas de *ILT4* para poblaciones africanas, europeas, asiáticas y del sur de Asia. Las secuencias para haplotipos que se expresaron con una prevalencia de un 5 % o mayor en cualquier población (haplotipos 1, 2, 5, 7, 9 y 10 en la **tabla 7**) se determinaron y expresaron en linfocitos T 3A9. 1E1(G4) se unió a todos los haplotipos sometidos a prueba usando dosis de saturación del anticuerpo (**figura 13**). El haplotipo 2 correspondió a la secuencia consenso informada en Uniprot. El haplotipo 5 se usó en ensayos funcionales y basados en ligando. Los datos de unión de haplotipos indican que 1E1(G4) se une a todas las principales variantes alélicas sometidas a prueba.

Tabla 7. Frecuencias de haplotipos para ILT4 en poblaciones humanas.

Haplotipo		rs373032	rs386056	rs7247538	rs7247451	rs1128646	Frecuencias de haplotipos por etnia				
		p.Glu161Asp	p.Val235Met	p.His300Tyr	p.Cys306Trp	p.Arg322His					
		c.483A>T	c.703G>A	c.898C>T	c.918C>G	c.965G>A	Todas	AFRICANA	EUROPEA	ASIÁTICA	DEL SUR DE ASIA
1	ATGGC	D	M	H	C	R	0,23	0,09	0,15	0,60	0,15
2	TCGGC	E	V	H	C	R	0,14	0,04	0,22	0,08	0,28
3	ATAGC	D	M	Y	C	R		0,03			
4	TCGCC	E	M	H	W	R			0,02		
5	ACACT	D	V	Y	W	H	0,30	0,17	0,58	0,08	0,37
6	ACACC	D	V	Y	W	R	0,02	0,04			0,02
7	ACGCT	D	V	H	W	H	0,02	0,06			
8	ACGGT	D	V	H	C	H		0,02			
9	ACGCC	D	V	H	W	R	0,02			0,01	0,11
10	ACGGC	D	V	H	C	R	0,23	0,54		0,20	0,06
f(SNP)		0,80	0,24	0,45	0,46	0,46					

* Los haplotipos para cada población se basaron en los datos de fase 3 del proyecto 1000 genomas y se determinaron usando PLINK para analizar los SNP no sinónimos enumerados en la base de datos EXAC.

Ejemplo 6: Expresión de ARN de ILT4 en tipos tumorales y celulares basada en las bases de datos TCGA y Blueprint

La expresión de ILT4 en los diversos tipos tumorales y poblaciones celulares se determinó usando conjuntos de datos de secuenciación de ARN públicamente disponibles, a través de Omicsoft (Qiagen, Cary, NC). El conjunto de datos de TCGA (TCGA_B38_20171002_v4, <https://gdc-portal.nci.nih.gov/>) consta de 11 292 muestras con datos de secuenciación de ARN. El conjunto de datos de Blueprint (Blueprint_B38_20170216_v2, <http://www.blueprint-epigenome.eu/>) consta de 258 muestras de sangre normales de 55 tipos celulares con datos de secuenciación de ARN. Los tipos tumorales con la máxima expresión de ILT4, a nivel de ARN, incluyen LAML (es decir, AML), DLBC (es decir, DLBCL), TGCT, MESO, KIRC (**figura 14A**). Los tipos celulares con la máxima expresión de ILT4, a nivel de ARN, incluyen neutrófilos, monocitos, osteoclastos, eosinófilos, macrófagos y células dendríticas (**figura 14B**). Los linfocitos tienen una expresión de baja a nula de ILT4, en este conjunto de datos. FPKM de 1 (o $\text{LOG}_2(\text{FPKM}+0,1)$ de 0) es el umbral fijo heurístico más ampliamente aceptado, aunque podía informarse de valores de FPKM menores en genes “con baja expresión” en una muestra.

Ejemplo 7: Unión de 1E1(G4) a células mieloides de muestras de histocultivo de tumor

Se prepararon histocultivos a partir de muestras de tumor humano recientes (resecciones quirúrgicas) y se trataron con anti-RSV IgG4 (control de isotipo) o 1E1(G4) a 20 µg /ml durante 18-24 horas a 37 °C. Después del tratamiento, cortes tumorales se digirieron en suspensiones de células aisladas y se tiñeron para FACS. Los gráficos de puntos y los gráficos de contorno representan los datos de FACS procedentes de suspensiones de células aisladas de histocultivo de tumor de RCC (**figura 15A**) o de CRC (**figura 15B**). Las células mieloides totales pueden subdividirse en cuatro subgrupos basados en la expresión de CD66b y/o CD14. Estos cuatro subgrupos mieloides se analizaron simultáneamente para la expresión de ILT4, usando un anti-ILT4-PE comercial no competitivo (BioLegend, cat n.º 338706, San Diego, CA) y 1E1(G4) unido a superficie celular, usando un anticuerpo secundario anti-IgG4. Se observó una buena correlación entre células ILT4+ y células 1E1(G4)+ en histocultivos tratados con 1E1(G4). Se observó que los linfocitos que se infiltraban en el tumor eran ILT4 y 1E1(G4) en estas muestras.

La presente invención no ha de estar limitada en alcance por los modos de realización específicos descritos en el presente documento. De hecho, el alcance de la presente invención incluye modos de realización específicamente expuestos en el presente documento y otros modos de realización no expuestos específicamente en el presente documento; no se pretende que los modos de realización expuestos específicamente en el

presente documento sean necesariamente exhaustivos. Diversas modificaciones de la invención, además de las descritas en el presente documento, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior. Se pretende que dichas modificaciones se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones.

Se citan las patentes, solicitudes de patente, publicaciones, descripciones de producto y protocolos a lo largo de esta solicitud, las divulgaciones de la cual se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad a todos los efectos.

Listado de secuencias

La presente memoria descriptiva se presenta con una copia en formato legible por ordenador (CRF) del Listado de secuencias. El 24443_PCT_SEQLIST.txt autorizado por el CRF, que fue creado el 22 de marzo de 2018 y tiene un tamaño de 128 042 bytes, se incorpora al presente documento por referencia en su integridad.

Reivindicaciones:

1. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a uno o más de los residuos de aminoácidos en un epítipo humano de un transcrito de tipo inmunoglobulina 4 (ILT4) seleccionado del grupo que consiste en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59), TRIRPEL (SEQ ID NO:60) NGQF (SEQ ID NO: 61) y HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62), y protege al epítipo del intercambio de deuterio en presencia de una fuente de deuterio.
2. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1, en el que el epítipo de ILT4 es LYREKKSASW (SEQ ID NO:59).
3. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1, en el que el epítipo de ILT4 es (SEQ ID NO: 60).
4. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1, en el que el epítipo de ILT4 es NGQF (SEQ ID NO: 61).
5. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1, en el que el epítipo de ILT4 es HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62).
6. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que compite con un anticuerpo de referencia por la unión a un epítipo de ILT4 humano seleccionado del grupo que consiste en LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59), TRIRPEL (SEQ ID NO: 60), NGQF (SEQ ID NO:61) y HTGRYGCQ (SEQ ID NO: 62), en el que el anticuerpo de referencia comprende una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2 y una una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7.
7. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 6, en el que el epítipo de ILT4 es LYREKKSASW (SEQ ID NO: 59).
8. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 6, en el que el epítipo de ILT4 es TRIRPEL (SEQ ID NO: 60).
9. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 6, en el que el epítipo de ILT4 es NGQF (SEQ ID NO: 61).
10. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 6, en el que el epítipo de ILT4 es HTGRYGCQ (SEQ ID NO:62).

11. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a ILT4 humano que comprende:

(1)

un dominio variable de la cadena pesada que comprende:

CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16),

CDR-H2: EINHXGSTNYNPSLKS, en la que X es S o A (SEQ ID NO: 17), y

CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18);

y

un dominio variable de la cadena ligera que comprende:

CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19),

CDR-L2: GX₁X₂NRPS; en la que X₁ es N, Q, E o D y X₂ es S o A (SEQ ID NO: 20), y

CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21);

(2)

un dominio variable de la cadena pesada que comprende:

CDR-H1: SYAIS (SEQ ID NO: 22),

CDR-H2: GIIPIFGTANYAQKFQG (SEQ ID NO: 23) y

CDR-H3: YFX₁X₂SGWYKGGAFDI; en la que X₁ es D o S y X₂ es S o A (SEQ ID NO: 24);

y

un dominio variable de la cadena ligera que comprende:

CDR-L1: TLRSGINVDTYRIH (SEQ ID NO: 25),

CDR-L2: YKSDSDKHQGS (SEQ ID NO: 26) y

CDR-L3: AIWYSSTWV (SEQ ID NO: 27);

(3)

un dominio variable de la cadena pesada que comprende:

CDR-H1: SYAMH (SEQ ID NO: 28),

CDR-H2: VISYDGSNKYYADSVKG (SEQ ID NO: 29) y

CDR-H3: VGEWIQLWSPFDY (SEQ ID NO: 30);

y

un dominio variable de la cadena ligera que comprende:

CDR-L1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO: 31),

CDR-L2: AASSLQS (SEQ ID NO: 32) y

CDR-L3: QQYNSYPPT (SEQ ID NO: 33); o

(4)

un dominio variable de la cadena pesada que comprende:

CDR-H1: ELSMH (SEQ ID NO: 34),

CDR-H2: GFDPEDGETIYAQKFQG (SEQ ID NO: 35) y

CDR-H3: AGPLYTIFGVVIIPDNWFDP (SEQ ID NO: 36); y

un dominio variable de la cadena ligera que comprende:

CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 37),

CDR-L2: GNSNRPS (SEQ ID NO: 38) y

CDR-L3: QSYDSSLSGSGVV (SEQ ID NO: 39).

12. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

un dominio variable de cadena pesada que comprende:

CDR-H1: GYYWS (SEQ ID NO: 16),

CDR-H2: EINHAGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO: 48) y

CDR-H3: LPTRWVTTRYFDL (SEQ ID NO: 18); y

un dominio variable de cadena ligera que comprende:

CDR-L1: TGSSSNIGAGYDVH (SEQ ID NO: 19),

CDR-L2: GDSNRPS(SEQ ID NO: 52) y

CDR-L3: QSFDNSLSAYV (SEQ ID NO: 21).

13. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

una inmunoglobulina de cadena ligera que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 14, 15 o 45, y/o

una inmunoglobulina de cadena pesada que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos expuesta en las SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

14. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende un dominio variable de la cadena ligera que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76, or 77, y/o

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende un dominio variable de la cadena pesada que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

15. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3, 4, 5, 6, 7, 11, 13, 15 o 45, y/o

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1, 2, 8, 9, 10, 12, 14, 44, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 u 86.

16. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 58, 74, 75, 76 o 77, y/o
un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 63, 57, 64, 65, 66, 67, 68 o 69.

17. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

(1)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 1; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3;

(2)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2 u 80; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 4;

(3)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2 u 80; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 5;

(4)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2 u 80; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 6;

(5)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2 u 80; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7;

(6)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2 u 80; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 3;

(7)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8 u 82; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11;

(8)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 8 u 85; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11;

(9)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 10 u 84; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 11;

(10)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 12 u 85; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 13; o

(11)

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 14 u 86; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 15.

18. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

(1)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 63; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 70;

(2)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 57; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 71;

(3)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 57; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 72;

(4)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 57; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 73;

(5)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 57; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 58;

(6)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 57; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 70;

(7)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 64; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 74;

(8)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 65; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 74;

(9)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 66; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 74;

(10)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 67; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 75; o

(11)

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 68; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 76;

19. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 57; y

un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 58.

20. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 2; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7.

21. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 11, que comprende:

una inmunoglobulina de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 80; y

una inmunoglobulina de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos expuesta en la SEQ ID NO: 7.

22. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de las reivindicaciones 1-21, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo está glucosilado con glucanos unidos a N de levaduras genomanipuladas o glucanos unidos a N de CHO.

23. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de cualquiera de las reivindicaciones 1-22.

24. La composición farmacéutica de la reivindicación 23 comprende además un agente terapéutico.

25. La composición farmacéutica de la reivindicación 23 o 24 comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

26. Un polipéptido que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un VH, un VL, tanto un VH como un VL, una inmunoglobulina de cadena pesada, una inmunoglobulina de cadena ligera, o tanto inmunoglobulina de cadena pesada como una inmunoglobulina de cadena ligera del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-21.

27. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 26.

28. Una célula huésped que comprende el polinucleótido de la reivindicación 26 o el vector de la reivindicación 27.

29. Un procedimiento para bloquear la unión de ILT4 a HLA-G, HLA-A, HLA-B y/o HLA-F en un sujeto humano que lo necesita, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22.
30. Un procedimiento de tratamiento de un cáncer en un sujeto humano, que comprende administrar al sujeto humano una cantidad eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22.
31. El procedimiento de la reivindicación 29 o 30 comprende además realizar un procedimiento terapéutico y/o administrar un agente terapéutico al sujeto humano.
32. Un procedimiento de producción del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 28 para expresar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.
33. Un procedimiento de producción del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, que comprende expresar el polinucleótido de la reivindicación 26.
34. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une al ILT4 humano que es un producto del procedimiento de la reivindicación 32 o 33.
35. Un procedimiento para detectar un péptido de ILT4 o fragmento del mismo en una muestra, que comprende poner en contacto la muestra con el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22 y detectar la presencia de un complejo entre el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.
36. Uso del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-22 para el tratamiento del cáncer.
37. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-22 para uso en el tratamiento del cáncer.
38. Un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 58 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 57.

39. El anticuerpo de la reivindicación 38, en el que cada cadena ligera comprende además la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 90 y cada cadena pesada comprende además la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 89.

40. Un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 2.

41. Un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera consiste en la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada consiste en la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 57.

42. Una composición farmacéutica que comprende: (1) un anticuerpo que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, en el que cada cadena ligera consiste en la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 7 y cada cadena pesada consiste en la secuencia de aminoácidos expresada en SEQ ID NO: 2, y (ii) pembrolizumab.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a ILT4 (transcrito de tipo inmunoglobulina 4) y combinaciones de los mismos, por ejemplo, con un anticuerpo anti-PD1. También se proporcionan procedimientos de uso de los mismos, por ejemplo, para tratar o prevenir el cáncer en un sujeto; y procedimientos de preparación de dichos anticuerpos y fragmentos.