

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, opcionalmente en donde el anticuerpo aislado tiene una o más de las siguientes propiedades:
 - a. se une específicamente a hVISTA en condiciones ácidas, pero no de manera significativa en condiciones neutras o fisiológicas;
 - b. el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una K_D que es al menos 10 veces más baja que su K_D en condiciones neutras o fisiológicas;
 - c. el anticuerpo se une a hVISTA en condiciones ácidas con una k_{off} que es al menos 5 veces más baja que su k_{off} en condiciones neutras o fisiológicas;
 - d. el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a células T humanas en condiciones que tienen un pH menor que pH 7.0;
 - e. el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a huPSGL-1 en condiciones que tienen un pH menor que pH 7,0;
 - f. el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a proteoglicanos de heparán sulfato;
 - g. el anticuerpo inhibe la unión de hVISTA a proteoglicanos de heparán sulfato en condiciones que tienen un pH menor que pH 7.0;
 - h. el anticuerpo estimula la activación de células T en condiciones que tienen un pH menor que pH 7.0;
 - i. el anticuerpo reduce la adhesión célula-célula mediada por VISTA;
 - j. anticuerpo tiene un tiempo de residencia promedio de al menos 500 días en macacos cynomolgus;
 - k. no está unido de manera significativa a células VISTA positivas, por ejemplo, neutrófilos, en la sangre periférica de un sujeto al cual se le administra el anticuerpo;
 - l. no está agotando de manera significativa células VISTA positivas, por ejemplo, neutrófilos, en la sangre periférica de un sujeto al cual se le administra el anticuerpo.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, donde el anticuerpo ha sido modificado genéticamente al reemplazar entre 1-8 aminoácidos en el CDR1, CDR2 y/o CDR3 de la VH del anticuerpo con un residuo de ácido glutámico, ácido aspártico o histidina.
3. El anticuerpo de la reivindicación 1 o 2, donde el anticuerpo comprende CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de P1-061029 o una variante de éste que comprende 1 a 6 o 1 a 8 diferencias de aminoácidos en CDR1, CDR2 y/o CDR3 en relación con P1-061029, donde a lo sumo 1, 2 o 3 diferencias en aminoácidos están presentes en cualquiera de las CDR.

4. El anticuerpo de la reivindicación 2 o 3, donde una diferencia en aminoácidos es una sustitución a un residuo de ácido glutámico (E), un residuo de ácido aspártico (D) o un residuo de histidina (H).
5. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el anticuerpo comprende
 - una CDR1 que comprende GFTX₁X₂DX₃AMH, donde X₁ es D o L, X₂ es E o D y X₃ es E o Y (SEQ ID NO:463);
 - una CDR2 que comprende GIX₄WX₅SX₆X₇IGYADSVKG, donde X₄ es D o N, X₅ es D o N, X₆ es D, E, H o A y X₇ es D, E, H o N (SEQ ID NO:464); y
 - una CDR3 que comprende VPGYSX₈GWIDAX₉DX₁₀, donde X₈ es E, H o G, X₉ es E, D o F y X₁₀ es D, E o V (SEQ ID NO:465).
6. El anticuerpo de la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, o P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100FF, P1-068761_E55A_E100FF, P1-068761_H100G_E100FF, P1-068761_E30D_E100FF, P1-068761_E56N_E100FF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100FF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100FF_D102V, P1-068767_E55A_E100FF, P1-068767_D52N_E100FF, P1-068767_E100FF o P1-068767_E30D_E100FF.
7. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, donde el anticuerpo comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de la VL de P1-061029.
8. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde el anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, o P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100FF, P1-068761_E55A_E100FF, P1-068761_H100G_E100FF, P1-068761_E30D_E100FF, P1-068761_E56N_E100FF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100FF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-

068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF o P1-068767_E30D_E100fF.

9. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1, 7 u 8, donde el anticuerpo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, o P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100fF, P1-068761_E55A_E100fF, P1-068761_H100G_E100fF, P1-068761_E30D_E100fF, P1-068761_E56N_E100fF, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, o P1-068761_E32Y_E100fF, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100fF_D102V, P1-068767_E55A_E100fF, P1-068767_D52N_E100fF, P1-068767_E100fF o P1-068767_E30D_E100fF.
10. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, donde el anticuerpo comprende una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la de P1-061029, donde el anticuerpo comprende la VL de P1-061029.
11. El anticuerpo de reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061015 o una variante de éste que comprende 1 a 6 diferencias de aminoácidos en CDR1, CDR2 y/o CDR3 en relación con P1-061015, donde a lo sumo 1, 2 o 3 diferencias de aminoácidos están presentes en cualquiera de las CDR.
12. El anticuerpo de la reivindicación 11, donde una diferencia de aminoácidos es una sustitución a un residuo de ácido glutámico (E), un residuo de ácido aspártico (D) o un residuo de histidina (H).
13. El anticuerpo de la reivindicación 12, donde el anticuerpo comprende
 - una CDR1 que comprende GFTFX₁X₂X₃MH, donde X₁ es E, D, H o S; X₂ es H o Y; y X₃ es D o A (SEQ ID NO:466);
 - una CDR2 que comprende X₄X₅WX₆DGSX₇X₈X₉X₁₀ADSVKG, donde X₄ es E, H o I; X₅ es D o I; X₆ es D o Y; X₇ es D o N; X₈ es D, H o K; X₉ es D, H o Y; y X₁₀ es E o Y (SEQ ID NO:467); y
 - una CDR3 que comprende DX₁₁X₁₂FYX₁₃X₁₄YYDFX₁₅, donde X₁₁ es E o S; X₁₂ es E o G; X₁₃ es D, E o S; X₁₄ es D o S; y X₁₅ es D, E o Y (SEQ ID NO:468).
14. El anticuerpo de la reivindicación 1, donde el anticuerpo comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 o P1-068754.

15. El anticuerpo de la reivindicación 11 o 14, donde el anticuerpo comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de la VL de P1-061015.
16. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 11, 14 o 15, donde el anticuerpo comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la de P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 o P1-068754.
17. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 11, 14 o 15, donde el anticuerpo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 o P1-068754.
18. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 11-17, donde el anticuerpo comprende una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a la de P1-061015.
19. El anticuerpo de la reivindicación 18, donde el anticuerpo comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de P1-061015.
20. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, donde el anticuerpo se une a la región rica en histidina de hVISTA o a la región cercana a esta, en condiciones con un pH 6,0-6,5.
21. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-20, donde el anticuerpo compite o compite en forma cruzada por la unión a hVISTA con uno o más anticuerpos que comprenden la VH y la VL de P1-061029, P1-068757, P1-068759, P1-068761, P1-068763, P1-068765, P1-068767, P1-068769, P1-068771, P1-068773, P1-068775, P1-069059, P1-069061, P1-069063, P1-069065, P1-069067, P1-069069, P1-069071, P1-069073, P1-069075, P1-069077, P1-069077, P1-068761_E55A, P1-068761_H100G, P1-068761_E56N, P1-068761_E55A_E56N, P1-068761_E30D, P1-068761_E30D_E55A, P1-068761_E56N_H100G, P1-068761_E30D_H100G, o P1-068761_E30D_E56N, P1-068761_E100ff, P1-068761_E55A_E100ff, P1-068761_H100G_E100ff, P1-068761_E30D_E100ff, P1-068761_E56N_E100ff, P1-068761_E32Y, P1-068761_E32Y_E55A, P1-068761_E32Y_E56N, P1-068761_E30D_E32Y, P1-068761_E32Y_H100G, P1-068761_E32Y_E100ff, P1-068767_D52N_D102V, P1-068767_D52N, P1-068767_D52N_E55A, P1-068767_E55A_D102V, P1-068767_D102V, P1-068767_E55A, P1-068767_E30D_D52N, P1-068767_E30D_D102V, P1-068767_E30D, P1-068767_E30D_E55A, P1-068767_E100ff_D102V, P1-068767_E55A_E100ff, P1-068767_D52N_E100ff, P1-068767_E100ff, P1-068767_E30D_E100ff, P1-061015, P1-068736, P1-068738, P1-068740, P1-068742, P1-068744, P1-068748, P1-068750, P1-068752 o P1-068754.
22. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-21, donde el anticuerpo no se une de manera significativa a hVISTA, en el cual se han mutado uno o varios de los siguientes residuos de aminoácidos: T35, Y37, K38, T39, Y41, R54, T61, F62, Q63, L65, H66, L67, H68, H69, F97, L115, V117, I119, H121, H122, S124, E125, R127.

23. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-22, que es un anticuerpo IgG, tal como un anticuerpo IgG1, IgG2 o IgG4 (IgG4 opcionalmente con S228P).
24. El anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, que es un conjugado fármaco anticuerpo (ADC).
25. Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-24.
26. Un ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada y/o la cadena ligera de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-24.
27. Una composición que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-24 y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera del anticuerpo.
28. Una célula que comprende el ácido nucleico aislado de cualquiera de las reivindicaciones 25 o 26 o la composición de la reivindicación 27.
29. Un método para preparar un anticuerpo, que comprende cultivar la célula de la reivindicación 28 en condiciones en las cuales se expresa el anticuerpo.
30. Una composición que comprende un anticuerpo aislado, un ácido nucleico, una composición o una célula de cualquiera de las reivindicaciones 1-28 y un portador farmacéuticamente aceptable.
31. Un método para tratar a un sujeto que tiene cáncer, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o un anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-24 o 30 que estimula una respuesta inmunitaria o es un anticuerpo antagonista de VISTA.
32. Un método para tratar una enfermedad infecciosa (por ejemplo, una enfermedad viral) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición o un anticuerpo aislado de cualquiera de las reivindicaciones 1-24 o 30 que estimula una respuesta inmunitaria y/o es un antagonista de VISTA.