

ANTICUERPOS PARA LILRB2

LISTADO DE SECUENCIAS

5 La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que fue presentado de forma electrónica en formato ASCII y que se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia. Dicha copia de ASCII, creada el 13 de diciembre de 2018, se denomina 51266-002WO2_Sequence_Listing_12.13.18_ST25 y tiene un tamaño de 206.026 bytes.

10 ANTECEDENTES

Las células mieloides, por ejemplo, las células dendríticas y macrófagos, pueden ordenarle al sistema inmunitario adaptativo que desarrolle una respuesta contra las células tumorales y patógenos mediante la presentación de antígenos peptídicos a linfocitos T, mientras que expresan citocinas inmunogénicas y señales coestimuladoras, promoviendo de este modo la activación y proliferación de 15 linfocitos T citotóxicos. Por el contrario, en una condición de estado estacionario, las células mieloides mantienen la tolerancia a las proteínas endógenas mediante la presentación de autoantígenos a linfocitos T en el contexto de señales no inmunogénicas, tales como las citocinas reguladoras, que pueden estimular a los linfocitos T reguladores y suprimir la inmunogenicidad.

Las células cancerosas pueden evadir el sistema inmunitario al acoplar las vías de señalización 20 que se asocian con la presentación de antígenos inmunosupresores o inmunoestimuladores. Dichos eventos de evasión representan un obstáculo principal para las estrategias terapéuticas que se basan en promover la inmunidad antitumoral. Por lo tanto, existe la necesidad de composiciones y métodos terapéuticos para prevenir la inmunosupresión inducida por el tumor y promover la presentación inmunogénica de antígenos tumorales por medio de células mieloides.

25

COMPENDIO

La presente invención presenta anticuerpos que se unen específicamente al LILRB2 humano. También se proporcionan composiciones de los anticuerpos anti-LILRB2 y métodos para usar los anticuerpos anti-LILRB2 y composiciones de estos.

30 En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos que se unen específicamente al LILRB2 humano, donde el anticuerpo comprende las siguientes regiones determinantes de complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés): (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de JY(J)₂G(J)₂ (SEQ ID NO: 171); (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de (J)₂W(J)₁₁KJ (SEQ ID NO: 172); (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de

(J)₂l(J)₃TDYV(J)₃ (SEQ ID NO: 173); (d) una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de (J)₈DLJ (SEQ ID NO: 174); (e) una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de (J)₇ (SEQ ID NO: 175); y (f) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de (J)₃YJYPLJ (SEQ ID NO: 176); donde cada J es independientemente un aminoácido de origen natural (véase, por ejemplo, la Tabla 1, más adelante).

En algunas modalidades, la CDR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de SJW(J)₁₁KJ (SEQ ID NO: 177) y/o la CDR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de (J)₃YDYPLJ (SEQ ID NO: 178).

En algunas modalidades, la CDR-H1 comprende la secuencia de aminoácidos de: (i) TYAMGVS (SEQ ID NO: 15); (ii) JYAMGVS (SEQ ID NO: 179); (iii) TYJMGVS (SEQ ID NO: 180); (iv) TYAJGVS (SEQ ID NO: 181); (v) TYAMGJS (SEQ ID NO: 182); (vi) TYAMGVJ (SEQ ID NO: 183); o (vii) una variante de cualquiera de (ii) a (vi) que comprende un aminoácido J en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 171. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 171, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 171. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 171.

En algunas modalidades, la CDR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de: (i) SIWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 16); (ii) SJWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 184); (iii) SIWJNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 185); (iv) SIWWJGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 186); (v) SIWWNJNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 187); (vi) SIWWNGJKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 188); (vii) SIWWNGNJYNNPSLKS (SEQ ID NO: 189); (viii) SIWWNGNKJNNPSLKS (SEQ ID NO: 190); (ix) SIWWNGNKYJNPSLKS (SEQ ID NO: 191); (x) SIWWNGNKYNJPSLKS (SEQ ID NO: 192); (xi) SIWWNGNKYNNJSLKS (SEQ ID NO: 193); (xii) SIWWNGNKYNNPJLKS (SEQ ID NO: 194); (xiii) SIWWNGNKYNNPSJKS (SEQ ID NO: 195); (xiv) SIWWNGNKYNNPSLKJ (SEQ ID NO: 196); o (xv) una variante de cualquiera de (ii) a (xiv) que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 172. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 172, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 172. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 172.

En algunas modalidades, la CDR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de: (i) SRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 17); (ii) JRIIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 197); (iii) SJIRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 198); (iv) SRIJRFTDYVMDA (SEQ ID NO: 199); (v) SRIIJFTDYVMDA (SEQ ID NO: 200); (vi) SRIIRJTDYVMDA (SEQ ID NO: 201); (vii) SRIIRFTDYVJDA (SEQ ID NO: 202); (viii) SRIIRFTDYVMJA (SEQ ID NO: 203); (ix) SRIIRFTDYVMDJ (SEQ ID NO: 204); o (x) una variante de

cualquiera de (ii) a (ix) que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 173. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 173, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 173. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 173.

En algunas modalidades, la CDR-L1 comprende la secuencia de aminoácidos de: (i) RASEDIYNDLA (SEQ ID NO: 18); (ii) JASEDIYNDLA (SEQ ID NO: 205); (iii) RJSEDIYNDLA (SEQ ID NO: 206); (iv) RAJEDIYNDLA (SEQ ID NO: 207); (v) RASJDIYNDLA (SEQ ID NO: 208); (vi) RASEJIYNDLA (SEQ ID NO: 209); (vii) RASEDJYNDLA (SEQ ID NO: 210); (viii) RASEDIJNDLA (SEQ ID NO: 211); (ix) RASEDIYJDLA (SEQ ID NO: 212); (x) RASEDIYNDLJ (SEQ ID NO: 213); o (xi) una variante de cualquiera de (ii) a (x) que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 174. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 174, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 174. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 174.

En algunas modalidades, la CDR-L2 comprende la secuencia de aminoácidos de: (i) NANSLHT (SEQ ID NO: 19); (ii) JANSLHT (SEQ ID NO: 214); (iii) NJNSLHT (SEQ ID NO: 215); (iv) NAJSLHT (SEQ ID NO: 216); (v) NANJLHT (SEQ ID NO: 217); (vi) NANSJHT (SEQ ID NO: 218); (vii) NANSLJT (SEQ ID NO: 219); (viii) NANSLHJ (SEQ ID NO: 220); o (ix) una variante de cualquiera de (ii) a (viii) que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 175. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 175, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 175. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 175.

En algunas modalidades, la CDR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de: (i) QQYYDYPLT (SEQ ID NO: 20); (ii) JQYYDYPLT (SEQ ID NO: 221); (iii) QJYYDYPLT (SEQ ID NO: 222); (iv) QQJYDYPLT (SEQ ID NO: 223); (v) QQYYDYPLJ (SEQ ID NO: 224); o (vi) una variante de cualquiera de (ii) a (v) que comprende un aminoácido J en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 176. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 176, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 176. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 176.

En algunas modalidades, la CDR-H2 comprende la secuencia de aminoácidos de JIWWNGNKYNNPSLKS (SEQ ID NO: 225); o una variante de esta que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO:

172, y/o la CDR-L3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYYJYPLT (SEQ ID NO: 226); o una variante de esta que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 176. Por lo tanto, cuando una secuencia variante se alinea con la SEQ ID NO: 176, esta mantiene los aminoácidos no J que se establecen en la SEQ ID NO: 176. El aminoácido J adicional en la variante se alinea, por lo tanto, con un aminoácido que es una J en la SEQ ID NO: 176.

En diversas modalidades de lo anterior, una o más de las CDR comprende dicho aminoácido J adicional. En modalidades adicionales, una o más de las CDR comprende 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos J adicionales. En estas modalidades adicionales, cada uno de los aminoácidos J adicionales se alinea con un aminoácido que es una J en la fórmula genérica respectiva para la CDR. Los aminoácidos específicamente mencionados de una fórmula genérica se mantienen.

En algunas modalidades, la CDR-H3 comprende la secuencia de aminoácidos de $(J)_2IXXJTDYV(J)_3$ (SEQ ID NO: 227), donde X no es arginina. En algunas modalidades, X se selecciona del grupo que consiste en aspartato, glutamato y alanina. En algunas modalidades, la CDR-H3 comprende la secuencia de: (i) JRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 228); (ii) SJIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 229); (iii) SRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 230); (iv) SRIIXFTDYVMDA (SEQ ID NO: 231); (v) SRIIXJTDYVMDA (SEQ ID NO: 232); (vi) SRIIXFTDYVJDA (SEQ ID NO: 233); (vii) SRIIXFTDYVMJA (SEQ ID NO: 234); (viii) SRIIXFTDYVMDJ (SEQ ID NO: 235); o (ix) una variante de cualquiera de (ii) a (iii) o (v) a (viii) que comprende un aminoácido J adicional en lugar de un aminoácido mencionado que está representado por una J en la SEQ ID NO: 173.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 o 113 y/o una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 o 114. Debe entenderse en la presente que si se necesita una secuencia en una reivindicación independiente y una reivindicación dependiente permite la variabilidad en una secuencia más grande que abarca la secuencia de la reivindicación independiente, esa variabilidad no es aplicable a la secuencia requerida en la reivindicación independiente,

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 o 113 y/o una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 o 114.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101 o 111 y/o una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102 o 112.

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis regiones determinantes de complementariedad (CDR): (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (d) una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (e) una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (f) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región de cadena pesada variable (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una región de cadena ligera variable (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En modalidades particulares, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una región V_L de cadena ligera variable que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 51 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52.

5 En otras modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63
10 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62.

15 En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 73 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En modalidades
20 particulares, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 73 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 71 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

25 En otras modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que
30 comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84. En modalidades particulares, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos

de la SEQ ID NO: 81 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93 y una
 5 región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93
 10 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94. En modalidades particulares, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 91 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 y una
 15 región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104. En modalidades
 20 particulares, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102.

En otras modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 113 y una
 25 región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 114, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15-17, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 18-20. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 113 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 114. En modalidades
 30 particulares, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos

de la SEQ ID NO: 111 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 112.

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis CDR: (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; (d) una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; (e) una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; y (f) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5-7, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 8-10. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En modalidades particulares, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.

En otro aspecto, la invención presenta un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis CDR: (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27; (d) una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28; (e) una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29; y (f) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25-27, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 28-30. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:

23 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.

5 En otro aspecto, la invención presenta un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis CDR: (a) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36; (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37; (d) una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38; (e)
10 una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39; y (f) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.

En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la
15 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35-37, donde la región V_L comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 38-40. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34. En algunas
20 modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32.

En otro aspecto, la invención presenta un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano, donde el anticuerpo comprende las siguientes seis CDR: (a) una CDR-H1 que comprende la
25 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45; (b) una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46; (c) una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 47; (d) una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48; (e) una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 49; y (f) una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50.

30 En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43 y una región V_L que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44, donde la región V_H comprende tres CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45-47, donde la región V_L comprende tres

CDR que comprenden la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 48-50. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región V_H que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43 y una región V_L que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.

En algunas modalidades de cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente, por ejemplo, aquellos que se describieron anteriormente, la cadena pesada del anticuerpo comprende adicionalmente una lisina de extremo C.

Con respecto a todos los aspectos y modalidades que se resumieron anteriormente, cuando se hace referencia a una secuencia específica, la invención incluye también variantes de las secuencias. En diversas modalidades, una variante puede ser especificarse como que incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más sustituciones de una secuencia mencionada.

En otro aspecto, la invención presenta un anticuerpo que ofrece competencia cruzada por la unión al LILRB2 humano con un anticuerpo de los aspectos precedentes.

En otro aspecto, la invención presenta un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano y bloquea la unión de HLA-G y/o HLA-A2 al LILRB2 humano. En algunas modalidades, el bloqueo se determina en un ensayo de bloqueo de tetrámeros de HLA-G que usa macrófagos derivados de monocitos humanos, células mieloides humanas y/o una línea celular que expresa LILRB2. En algunas modalidades, el ensayo incluye el uso de perlas conjugadas con HLA-G. En algunas modalidades, el anticuerpo bloquea el tetrámero de HLA-G con una EC₅₀ inferior a 20 nM (por ejemplo, inferior a 10 nM, inferior a 5 nM, inferior a 2 nM, inferior a 1,0 nM, inferior a 0,5 nM, o inferior a 0,2 nM). En algunas modalidades, el anticuerpo bloquea el tetrámero de HLA-G con una EC₅₀ inferior a 0,2 nM. En algunas modalidades, el bloqueo se determina en un ensayo de bloqueo de tetrámeros de HLA-A2 que usa macrófagos derivados de monocitos humanos. En algunas modalidades, el anticuerpo bloquea el tetrámero de HLA-A2 con una EC₅₀ inferior a 20 nM (por ejemplo, inferior a 10 nM, inferior a 5 nM, inferior a 2 nM, inferior a 1,0 nM, inferior a 0,5 nM, o inferior a 0,2 nM). En algunas modalidades, el anticuerpo bloquea el tetrámero de HLA-A2 con una EC₅₀ inferior a 0,2 nM. En cualquiera de las modalidades anteriores, en las que el anticuerpo se une específicamente al LILRB2 humano y bloquea la unión del HLA-G y/o HLA-A2 al LILRB2 humano, el anticuerpo puede ser cualquiera de los anticuerpos de cualquier otro o más aspectos de la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une específicamente al LILRB2 humano, donde dicho anticuerpo es capaz de convertir un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1. En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago

similar a M1 se indica por medio de una expresión aumentada de uno o más genes (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco o los seis genes) que se seleccionan del grupo que consiste en CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, IL6R e IL15. De manera adicional o alternativa, en algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de una expresión

5 aumentada de uno o más genes (por ejemplo, uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho o nueve genes) que se seleccionan del grupo que consiste en IL-10, CCL2, TGFB2, CXCL13, IL21R, CD36, CR1, C1QB y TGFBI. En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se detecta usando un ensayo de histocultivo tumoral. En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se detecta usando un ensayo

10 de macrófagos humanos y primarios que usa macrófagos derivados de monocitos humanos. En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de una expresión aumentada de una, dos o tres citocinas que se seleccionan del grupo que consiste en TNF α , IL-1 β e IL-6, y/o la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de la expresión aumentada de una o ambas citocinas que se seleccionan del

15 grupo que consiste en IL-10 y CCL-2. En cualquiera de las modalidades anteriores, en las que el anticuerpo es capaz de convertir un macrófago similar en M2 en un macrófago similar a M1, el anticuerpo puede ser cualquiera de los anticuerpos de cualquier otro o más aspectos de la invención.

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos precedentes, el anticuerpo se une a LILRB2 con una constante de disociación (K_D) inferior a 3,0 nM (por ejemplo, inferior a 1.5 nM, inferior a

20 1,0 nM o inferior a 750 pM).

En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos precedentes, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos precedentes, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo injertado con CDR o un anticuerpo humano. En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos precedentes, el

25 anticuerpo incluye una región Fc que se selecciona del grupo que consiste en una región Fc natural, una región Fc variante y una región Fc funcional. En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos precedentes, el anticuerpo es un anticuerpo conjugado o se etiqueta de forma detectable. En algunas modalidades de cualquiera de los aspectos precedentes, el anticuerpo es un anticuerpo IgG1, un anticuerpo IgG2, un anticuerpo IgG3 o un anticuerpo IgG4.

En todos los aspectos de la invención, si una modalidad más específica opcional no es consistente con una modalidad más general, entonces puede considerarse como que está excluida de la modalidad general.

30

En otro aspecto, la invención proporciona una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido del anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes.

En otro aspecto, la invención proporciona una célula hospedadora o vector que incluye una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido del anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes.

5 En otro aspecto, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes o una molécula de ácido nucleico que codifica el anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes.

10 En otro aspecto, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad en un sujeto que lo necesita, tal método incluye administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes. En algunas modalidades, la enfermedad es un cáncer (véanse, por ejemplo, ejemplos de tipos de cáncer que se enumeran en otra parte en la presente). En algunas modalidades, el método incluye además administrar el anticuerpo junto con un segundo agente terapéutico (por ejemplo, una inmunoterapia o una vacuna contra el cáncer). En algunas modalidades, el segundo agente terapéutico es una inmunoterapia que comprende una terapia con PD-1 y/o una terapia con ICOS.

15 En otro aspecto, la invención proporciona un método para mejorar una respuesta inmunitaria antitumoral en un sujeto que lo necesita, tal método incluye administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes. En algunas modalidades, el método incluye además administrar el anticuerpo junto con un segundo agente terapéutico (por ejemplo, una inmunoterapia o una vacuna contra el cáncer). En algunas modalidades, el segundo agente terapéutico es una inmunoterapia que comprende una terapia con PD-1 y/o una terapia con ICOS.

20 En otros aspectos, la invención incluye el uso de anticuerpos, composiciones farmacéuticas y combinaciones para prevenir, tratar, mejorar uno o más síntomas de una enfermedad o afección (por ejemplo, como se describe en la presente, por ejemplo, cáncer) o el uso de estos agentes para la preparación de un medicamento para estos fines.

25 En otro aspecto, la invención proporciona un kit que incluye una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de cualquiera de los aspectos precedentes o una molécula de ácido nucleico que codifica el anticuerpo de cualquiera de los aspectos e instrucciones precedentes para su uso.

30 En un aspecto adicional, la invención proporciona un oligonucleótido que comprende un fragmento de ácido nucleico, donde el fragmento de ácido nucleico comprende al menos 16 residuos de ácido nucleico consecutivos de la secuencia de oligonucleótidos de CGTCACCCTCAGTTGTCAG (SEQ ID NO: 143) o TCCGTGTAATCCAAGATGCTG (SEQ ID NO: 158). En algunas modalidades, el fragmento de ácido nucleico comprende al menos 16 residuos de ácido nucleico consecutivos de la

secuencia de oligonucleótidos de AGTCCCGTCACCCTCAGTTGTCAGGGGAG (SEQ ID NO: 169) o TCGTATCCGTGTAATCCAAGATGCTGATTTT (SEQ ID NO: 170).

La invención incluye también un conjunto de cebadores qPCR que comprende un cebador directo y un cebador inverso, donde el cebador directo comprende un fragmento de ácido nucleico que comprende al menos 16 residuos de ácido nucleico consecutivos de la secuencia de oligonucleótidos de la SEQ ID NO: 143 o 169, y el cebador inverso comprende un fragmento de ácido nucleico que comprende al menos 16 residuos de ácido nucleico consecutivos de la secuencia de oligonucleótidos de la SEQ ID NO: 158 o 170, donde el conjunto de cebadores qPCR se incluye opcionalmente dentro de un kit que comprende además una sonda que incluye al menos 16 residuos consecutivos de la SEQ ID NO: 167.

Además, la invención incluye un método para cuantificar un nivel de expresión de LILRB2 en una muestra biológica, tal método comprende: (a) obtener ADNc derivado de una muestra biológica; (b) realizar qPCR en el ADNc usando un oligonucleótido de la reivindicación 87 u 88, o un conjunto o kit de cebadores qPCR de la reivindicación 89, para producir un producto de amplificación, donde la qPCR es específica para LILRB2; y (c) cuantificar el producto de amplificación para determinar el nivel de expresión de LILRB2.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un anticuerpo como se describe en la presente (por ejemplo, anteriormente o en otra parte en la presente) para tratar o prevenir una enfermedad (por ejemplo, cáncer, véase, por ejemplo, más adelante) en un sujeto que lo necesita mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de anticuerpo al sujeto.

En un aspecto adicional, la invención incluye el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo como se describe en la presente (por ejemplo, anteriormente y en otra parte en la presente) para mejorar una respuesta inmunitaria antitumoral en un sujeto que lo necesita mediante la administración de una cantidad eficaz del anticuerpo al sujeto.

En cualquiera de los aspectos anteriores, el uso puede incluir también la administración del anticuerpo en combinación con un segundo agente terapéutico (por ejemplo, una inmunoterapia (por ejemplo, una terapia con PD-1 y/o una terapia con ICOS) o una vacuna contra el cáncer).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La FIG. 1 es una figura que ilustra un modelo de una célula mieloide que expresa LILRB2 y una célula tumoral que expresa HLA-G. Se muestra un anticuerpo anti-LILRB2 bloqueador entre el LILRB2 expresado en la célula mieloide y el HLA-G expresado en la célula tumoral.

Las FIG. 2A-2L son gráficas de citometría de flujo que muestran la regulación por disminución de marcadores de maduración en CD mediante tetrámeros de HLA-G. La expresión de marcadores de

maduración se evaluó mediante citometría de flujo en células dendríticas inmaduras (CDi) de donante LILRB2^{hi/pos} (FIG. 2A-2F) y donante LILRB2^{bajo/neg} (FIG. 2G-2L) cultivadas en medios (histogramas abiertos, líneas punteadas) o maduras con un cóctel de citocinas en ausencia (histogramas abiertos, líneas sólidas) o presencia (histogramas completos) del tetrámero de HLA-G. Los histogramas se separaron en células vivas, como se muestra en las FIG. 2A y 2G. Las FIG. 2B y 2H muestran la expresión de LILRB2; las FIG. 2C y 2I muestran la expresión de CD11c; las FIG. 2D y 2J muestran la expresión de HLA-DR; las FIG. 2E y 2K muestran la expresión de CD86; y las FIG. 2F y 2L muestran la expresión de CD80.

Las FIG. 3A y 3B son tablas que muestran los resultados de un análisis de anti-LILRB2 quimérico. Los cuadros sombreados indican los resultados que cumplieron con los criterios umbrales para cada ensayo de cribado.

La FIG. 4 es una gráfica que muestra los resultados de un análisis de reactividad cruzada de la familia LILR basado en células de mAb quiméricos anti-LILRB2. Se muestran anticuerpos específicos para hLILRB2 (símbolos completos) y de reacción cruzada (símbolos abiertos) a partir del análisis. Los anticuerpos detectados con mayor unión de pliegue doble con respecto al mAb de control de isotipo se identificaron como anticuerpos de reacción cruzada hLILR (la línea punteada representa este umbral).

La FIG. 5 es una gráfica que muestra los resultados del bloqueo de HLA-G basado en células mediante mAb anti-LILRB2. Se muestran mAb quiméricos anti-LILRB2 que bloquean HLA-G en barras blancas y se identificaron como mAb capaces de bloquear al menos 50 % de unión de HLA-G a células hLILRB2⁺ (línea punteada). Los mAb quiméricos LILRB2 no bloqueadores se representan en barras negras y un mAb de control de isotipo está en una barra gris.

La FIG. 6 es una gráfica que muestra los resultados del bloqueo de HLA-A2 basado en células mediante mAb anti-LILRB2. Se muestran mAb quiméricos anti-LILRB2 que bloquean HLA-A2 en barras blancas y se identificaron como mAb capaces de bloquear al menos 50 % de unión de HLA-A2 a células hLILRB2⁺ (línea punteada). Los mAb quiméricos LILRB2 no bloqueadores se representan en barras negras y un mAb de control de isotipo está en una barra gris.

Las FIG. 7A y 7B son gráficas que muestran los resultados de ensayos funcionales basados en células mediante mAb anti-LILRB2. La FIG. 7A muestra la producción de TNF α con respecto al isotipo. La FIG. 7B muestra la producción de IL-10 con respecto al isotipo. Se muestran controles de isotipo en líneas punteadas grises/grises.

Las FIG. 8A y 8B son gráficas que muestran la correlación del bloqueo de ligando frente a citocinas que promueven M1 mediante mAb anti-LILRB2. Se observó una correlación positiva entre el bloqueo de HLA-G (FIG. 8A) y el bloqueo de HLA-A2 (FIG. 8B) y el TNF α producido en respuesta a mAb

anti-LILRB2 (círculos negros) en ensayos de células primarias. Se muestran mAb de control negativo en gris.

Las FIG. 9A-9C son gráficas que muestran la evaluación de la reactividad cruzada de células primarias humanas-NHP de mAb anti-LILRB2. Los anticuerpos se incubaron con sangre completa de humano (FIG. 9A), cyno (FIG. 9B) y rhesus (FIG. 9C). Los mAb anti-LILRB2 mostraron mayores poblaciones de LILRB2+ de unión que incluyen monocitos (círculos) y neutrófilos (cuadrados) con respecto a los linfocitos (triángulos). Se descubrió que todos los monocitos y neutrófilos humanos unidos a mAb anti-LILRB2 y un único mAb anti-LILRB2 muestran unión a especies cruzadas para monocitos y neutrófilos de cyno y rhesus. Las barras indican la media de dos donantes por especie.

Las FIG. 10A y 10B son gráficas que muestran la evaluación de unión a células para el LILRB2 de rhesus putativo expresado con CHO (LILRBb). Seleccionar el mAb quimérico anti-hLILRB2 (negro) unido de forma selectiva al LILRBb de rhesus putativo (FIG. 10A) de una manera específica y dependiente de la dosis. Este mAb anti-hLILRB2 no se unió a la proteína relacionada estrechamente en el LILRBa de rhesus (FIG. 10B). El mAb de control de isotipo (gris) no se unió tampoco a la línea celular.

Las FIG. 11A y 11B son tablas que muestran los resultados la caracterización de anti-LILRB2 humanizados.

La FIG. 12 es una gráfica que muestra los resultados de un análisis de reactividad cruzada de la familia LILR basado en células de mAb anti-LILRB2 humanizados. Se muestran anticuerpos específicos para hLILRB2 (símbolos completos) a partir del análisis. No se identificó ningún anticuerpo con reacción cruzada LILR.

La FIG. 13 es una gráfica que muestra la determinación de afinidad basada en células de mAb anti-hLILRB2 humanizados. Todos los mAb anti-hLILRB2 probados mostraron unión específica dependiente de la dosis al hLILRB2 expresado en células (negro), mientras que el mAb de control de isotipo no se unió a hLILRB2 (gris).

La FIG. 14 es una gráfica que muestra el bloqueo de HLA-G basado en células mediante mAb anti-LILRB2 humanizados. Los mAb anti-hLILRB2 humanizados (círculos rellenos, negros) bloquean las interacciones de HLA-G:hLILRB2 en los macrófagos humanos primarios dentro del intervalo subnanomolar. El mAb de control de isotipo (gris) y el mAb anti-hLILRB2 quimérico no bloqueador (círculos abiertos) no interrumpieron la interacción entre el HLA-G y el hLILRB2 expresado en células.

La FIG. 15 es una gráfica que muestra el bloqueo de HLA-A2 basado en células mediante mAb anti-LILRB2 humanizados. Los mAb anti-hLILRB2 humanizados (círculos rellenos, negros) bloquean las interacciones de HLA-A2:hLILRB2 en los macrófagos humanos primarios dentro del intervalo subnanomolar. El mAb de control de isotipo (gris) y el mAb anti-hLILRB2 quimérico no bloqueador (círculos abiertos) no interrumpieron la interacción entre el HLA-A2 y el hLILRB2 expresado en células.

Las FIG. 16A y 16B son gráficas que muestran los resultados del ensayo funcional basado en células de mAb anti-LILRB2 humanizados. Los mAb anti-hLILRB2 humanizados (círculos rellenos, negros) muestran la actividad promotora de M1 según lo medido mediante producción de TNF α (FIG. 16A) y la actividad de M2 supresora según lo medido mediante una reducción en la producción de IL-10 (FIG. 16B) por medio de HMDM estimulados con LPS. Los mAb de control negativo que incluyen el control de isotipo (gris) y el mAb quimérico anti-hLILRB2 bloqueador de no ligandos (círculos abiertos) no mostraron actividad en este ensayo.

Las FIG. 17A y 17B son gráficas que muestran los resultados de una evaluación de unión a células para el LILRB2 de rhesus expresado con CHO (LILRBb). Seleccionar el mAb quimérico anti-hLILRB2 (negro) unido de forma selectiva al LILRBb de rhesus (FIG. 17A) de una manera específica y dependiente de la dosis. Este mAb anti-hLILRB2 no se unió a la proteína relacionada estrechamente en el LILRBa de rhesus (FIG. 17B). El mAb de control de isotipo (gris) no se unió tampoco a la línea celular.

La FIG. 18 es un diagrama de volcán que muestra el log₂ (cambio múltiplo) en la expresión génica en respuesta al tratamiento con respecto al control con palivizumab frente al -log₁₀ (valor p nominal). Cada punto ilustra el cambio normalizado promedio en la expresión génica en todas las muestras que reciben el mismo tratamiento. Se realizaron cálculos en MATLAB® y se calcularon los valores p al realizar la función ttest (la hipótesis nula es que el log₂ normalizado promedio (cambio múltiplo) en la expresión génica en todas las muestras para un tratamiento particular es 0).

La FIG. 19 es un mapa de calor de agrupamiento jerárquico que muestra el log₂ (cambio múltiplo) en la expresión génica de cada gen (fila) en cada muestra tratada (columna) normalizada con un control de IgG4 para cada muestra de histocultivo de riñón. Cada gen en la lista mostró expresión diferencial con respecto al menos dos tratamientos con un valor p nominal inferior a 0,055 (véase la Tabla 7). La expresión de genes del Conjunto 1 se regula por disminución generalmente en respuesta al tratamiento (cuadros grises) y la expresión de genes del Conjunto 2 se regula por disminución generalmente en respuesta al tratamiento (cuadros negros). El umbral de ruido se establece a 0,3 según la distribución de expresión génica doméstica. Se usó una métrica de distancia euclidiana en el agrupamiento de enlace completo que se realizó en Spotfire.

La FIG. 20 es una gráfica que muestra una puntuación de respuestas para cada donante para cada anticuerpo anti-LILRB2 de bloqueo de ligandos.

Las FIG. 21A y 21B son gráficas que muestran las puntuaciones de distintivos de monocultivo para cada uno de los tres anticuerpos anti-LILRB2 para cada paciente que no responde al tratamiento, paciente que responde al tratamiento parcial y paciente que responde al tratamiento completo.

La FIG. 22 es una gráfica que muestra la unión de la proteína sérica a los anticuerpos en la concentración de anticuerpos. No se observó ninguna unión de proteínas séricas a anticuerpos LILRB2.

Las FIG. 23A-23D son gráficas que muestran los resultados de un ensayo de liberación de citocinas de la sangre entera. La FIG. 23A muestra la secreción de IL-4, la FIG. 23B muestra la secreción de IL-6, la FIG. 23C muestra la secreción de IL-8, y la FIG. 23D muestra la secreción de TNF α . El ensayo se incubó durante 24 horas a 37 °C. El plasma se aisló luego con citocinas y se midió usando un panel MSD de citocinas 10. Los datos son media $\pm$ DE de tres donantes.

Las FIG. 24A-24D son gráficas que muestran los resultados de un ensayo de activación de neutrófilos. La FIG. 24A muestra la expresión de CD11b (como la intensidad de fluorescencia media geométrica), la FIG. 24B muestra el porcentaje de células ricas en CD11b, la FIG. 24C muestra la expresión de CD62L (como la intensidad de fluorescencia media geométrica) y la FIG. 24D muestra el porcentaje de células bajas en CD62L, cada una en respuesta a diversas concentraciones de anticuerpos. El ensayo se incubó durante 2 horas a 37 °C. Los cambios en los marcadores de activación de neutrófilos (aumento en Cd11b y disminución en CD62L) se evaluaron mediante citometría de flujo. Los datos son media $\pm$ DE de dos donantes.

La FIG. 25 es una gráfica que muestra la concentración de suero del anticuerpo anti-LILBR2 en monos cynomolgus con el paso del tiempo, después de una dosis de 30 mg/kg o una dosis de tres mg/kg. Los datos son el promedio $\pm$ DE de tres monos individuales.

Las FIG. 26A y 26B son gráficas que muestran las poblaciones de neutrófilos en la sangre periférica medidas mediante ensayo de recuento sanguíneo completo (CBC, por sus siglas en inglés) en el estudio previo de monos cynomolgus y después de la dosificación de anticuerpos anti-LILRB2. Los datos se presentan como cantidad promedio de células (FIG. 26A) y como un porcentaje del total (FIG. 26B).

Las FIG. 27A y 27B son gráficas que muestran el crecimiento de tumores en ratones con el paso del tiempo después de la inoculación con células B16.SIY. La FIG. 27A muestra el crecimiento tumoral en ratones de tipo salvaje (WT y la FIG. 27B muestra el crecimiento tumoral en ratones que no expresan PirB (Pirb^{-/-}).

Las FIG. 28A y 28B son gráficas que muestran el crecimiento de tumores en ratones con el paso del tiempo después de la inoculación con células LLC. La FIG. 28A muestra el crecimiento tumoral en ratones WT y la FIG. 28B muestra el crecimiento tumoral en ratones Pirb^{-/-}.

Las FIG. 29A y 29B son gráficas que muestran el crecimiento de tumores en ratones con el paso del tiempo después de la inoculación con células MC38. La FIG. 29A muestra el crecimiento tumoral en ratones WT y la FIG. 29B muestra el crecimiento tumoral en ratones Pirb^{-/-}.

La FIG. 30 muestra las secuencias de las regiones variables de cadena pesada (SEQ ID NO: 53) y cadena ligera (SEQ ID NO: 54) de J-19.h1.

La FIG. 31 es un histograma de las puntuaciones de respuestas IFN γ PD de 173 muestras tumorales de 80 tumores tratados con palivizumab durante 24 horas.

La FIG. 32 es un diagrama de Venn y gráfica que describen las tasas de respuesta PD a J-19.h1 en las 3 indicaciones: carcinoma de células renales, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de pulmón.

5 La FIG. 33 es una serie de gráficas que muestran las puntuaciones de distintivos de Keytruda calculados para muestras no tratadas, según la expresión génica normalizada (la expresión génica bruta se normaliza para genes domésticos y sondas de control negativo, luego transformado por log2).

La FIG. 34, panel izquierdo, es una tabla que muestra las puntuaciones de distintivos de IFN γ PD promedio calculadas para 18 tumores de cabeza y cuello en respuesta a J-19.h1, pembrolizumab, o
10 J-19.h1 combinado con pembrolizumab.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE ALGUNAS MODALIDADES

En general, la presente invención presenta anticuerpos contra el receptor similar a la inmunoglobulina de leucocitos B2 (LILRB2), por ejemplo, anticuerpos útiles para tratar la enfermedad
15 (por ejemplo, cáncer). La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que es posible generar anticuerpos que son simultáneamente (1) específicos para LILRB2 (por ejemplo, ya que no se unen a otros miembros de la familia LILRA y LILRB) (2) capaces de bloquear la unión de HLA-G y/o HLA-A2 a LILRB2 en los macrófagos, y (3) capaces de promover un fenotipo proinflamatorio en macrófagos puestos en contacto. De hecho, la presente solicitud describe la identificación de tres
20 familias independientes de dichos anticuerpos y describe que los anticuerpos con las propiedades anteriores son capaces de inducir macrófagos asociados al tumor para mostrar propiedades contra el cáncer. Con base, en parte, en estas propiedades, así como también en propiedades farmacocinéticas y de seguridad favorables en modelos de animales pertinentes a la fisiología humana, los anticuerpos descritos son candidatos para su uso terapéutico en humanos.

25 Se proporcionan anticuerpos que se unen específicamente a LILRB2 (por ejemplo, el LILRB2 humano). También se proporcionan cadenas pesadas y cadenas ligeras de anticuerpos que son capaces de formar anticuerpos que se unen a LILRB2 (por ejemplo, el LILRB2 humano). Además, se proporcionan anticuerpos, cadenas pesadas y cadenas ligeras que comprenden una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés) particulares. Se proporcionan
30 además anticuerpos que presentan competencia cruzada por la unión a LILRB2 (por ejemplo, el LILRB2 humano) con cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente. En algunos aspectos, la presente invención proporciona anticuerpos que se une específicamente al LILRB2 (por ejemplo, el LILRB2 humano) y bloquea la unión de HLA-G y/o HLA-A2 al LILRB2 humano. Se proporcionan también anticuerpos que se unen específicamente al LILRB2 (por ejemplo, el LILRB2 humano) que son capaces

de convertir un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1. Se proporcionan polinucleótidos que codifican anticuerpos para LILRB2 (por ejemplo, cualquiera de los anticuerpos LILRB2 que se proporcionan en la presente). También se proporcionan polinucleótidos que codifican cadenas pesadas o cadenas ligeras de anticuerpos de estos. Además, se proporcionan células hospedadoras que contienen polinucleótidos descritos en la presente. De manera adicional, se proporcionan composiciones farmacéuticas que incluyen cualquiera de los anticuerpos o polinucleótidos proporcionados en la presente. Se proporcionan métodos de tratamiento con anticuerpos para LILRB2. Dichos métodos incluyen, de modo no taxativo, métodos para el tratamiento del cáncer.

Los títulos de las secciones que se usan en la presente cumplen solamente fines de organización y no se ha de interpretar que limiten la materia descrita.

Todas las referencias citadas en la presente, lo que incluye las solicitudes de patente, publicaciones de patente y números de acceso a Genbank, se incorporan a la presente mediante esta referencia, tal como si se indicara que cada referencia individual se incorpora en su totalidad mediante una referencia de forma específica e individual.

Los expertos en la técnica entienden bien en términos generales y emplean comúnmente las técnicas y procedimientos descritos o mencionados en la presente memoria al usar metodología convencional, tal como, por ejemplo, las metodologías ampliamente usadas descritas en Sambrook et ál., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3.^a edición (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. *Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubel, et ál. eds., (2003)); the series *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.); *PCR 2: A Practical Approach* (M. J. MacPherson, B. D. Hames y G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow y Lane, eds. (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture* (R. I. Freshney, ed. (1987)); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R. I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J. P. Mather y P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures* (A. Doyle, J. B. Griffiths, y D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Handbook of Experimental Immunology* (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds.); *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J. M. Miller y M. P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et ál., eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan et ál., eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley y Sons, 1999); *Immunobiology* (C. A. Janeway P. Tyravers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd y C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow y D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); *The Antibodies*

(M. Zanetti y J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); y Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et ál., eds., J.B. Lippincott Company, 1993); y versiones actualizadas de estos.

I. Definiciones

5 A menos que se definan de otra forma, los términos científicos y técnicos utilizados con relación a la presente descripción tendrán los significados que entienden comúnmente los expertos en la técnica. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario o se indique de forma expresa, los términos en singular incluirán conceptos plurales y los términos en plural incluirán los conceptos en singular. En caso de conflicto entre definiciones de diferentes fuentes o referencias, prevalecerá la definición provista en
10 la presente.

Se comprende que las modalidades de la invención descritas en la presente incluyen «que consiste en» y/o «que consiste esencialmente en» modalidades. Tal como se usan en la presente, las formas en singular «un», «uno/a» y, «el/la» incluyen referencias en plural, a menos que se indique de otro modo. No se pretende que el uso del término «o» en la presente implique las alternativas sean
15 mutuamente excluyentes.

En la presente solicitud, el uso de «o» significa «y/o», a menos que se indique claramente lo contrario o así lo entienda un experto en la técnica. En el contexto de una reivindicación de la que dependen otras, el uso de «o» hace referencia a más de una reivindicación independiente o dependiente anterior.

20 Las expresiones «molécula de ácido nucleico,» «ácido nucleico» y «polinucleótido» se pueden utilizar de forma intercambiable y hacen referencia a un polímero de nucleótidos. Esos polímeros de nucleótidos pueden contener nucleótidos naturales y/o no naturales e incluyen, de modo no taxativo, ADN, ARN y APN. Una «secuencia de ácido nucleico» hace referencia a la secuencia lineal de nucleótidos que comprende el polinucleótido o molécula de ácido nucleico.

25 Los términos «polipéptido» y «proteína» se usan indistintamente para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácidos, y no se limitan a una longitud mínima. Tales polímeros de residuos de aminoácidos pueden contener residuos de aminoácidos naturales o no naturales, e incluyen, de modo no taxativo, péptidos, oligopéptidos, dímeros, trímeros y multímeros de residuos de aminoácidos. Tanto las proteínas de longitud completa como sus fragmentos están abarcados por la definición. Los términos
30 también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación, fosforilación, y similares. Asimismo, a efectos de la presente divulgación, un «polipéptido» hace referencia a una proteína que incluye modificaciones, tales como eliminaciones, adiciones y sustituciones (en general, de naturaleza conservativa), a la secuencia natural, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, a través de

mutagénesis dirigida al sitio, o pueden ser accidentales, tales como a través mutaciones de hospedadores que producen las proteínas o errores debido a la amplificación por PCR.

La expresión «se une específicamente» a un antígeno o epítipo se entiende en la técnica y también se conocen métodos para determinar dicha unión específica. Se plantea que una molécula exhibe «unión específica» o «unión preferencial» si reacciona o se asocia con mayor frecuencia, más fácilmente, con mayor duración y/o mayor afinidad con una sustancia o célula particular que con sustancias o células alternativas. Un anticuerpo «se une específicamente» o «se une preferencialmente» a un objetivo si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración respecto a su unión a otras sustancias. Por ejemplo, un anticuerpo que se une específica o preferencialmente con un epítipo de LILRB2 es un anticuerpo que se une a dicho epítipo con mayor afinidad, avidez, más rápidamente y/o con mayor duración respecto a su unión a otros epítopos de LILRB2 o epítopos no de LILRB2. También se entiende al leer esta definición que, por ejemplo, un anticuerpo (o resto o epítipo) que se une específicamente o preferencialmente a una primera diana puede unirse específicamente o preferencialmente a una segunda diana o no. Por lo tanto, «unión específica» o «unión preferencial» no requieren necesariamente una unión exclusiva (aunque la pueden incluir). En general, aunque no necesariamente, la referencia a unión significa unión preferencial. La «especificidad» hace referencia a la capacidad de una proteína de unión para unirse selectivamente a un antígeno.

Tal como se usa en la presente, «sustancialmente puro» se refiere a material que es al menos 50 % puro (es decir, libre de contaminantes) al menos 90 % puro, al menos 95 % puro, al menos 98 % o al menos 99 % puro.

La expresión «presenta competencia cruzada» hace referencia a la unión competitiva de una molécula con otra, por ejemplo, al unir todo el epítipo o parte de este. La competición cruzada puede determinarse usando los experimentos que se describen en la presente (por ejemplo, interferometría de biocapa), por ejemplo, al no detectar ninguna señal de respuesta positiva tras la adición de un segundo anticuerpo a un sensor después de que un primer anticuerpo se une a la señal. En modalidades particulares, un anticuerpo LILRB2 presenta competencia cruzada con otro anticuerpo LILRB2 por su unión a LILRB2. La caracterización de dicha competición cruzada entre anticuerpos LILRB2 se describe, por ejemplo, en el Ejemplo 3.

El término «anticuerpo» se utiliza en la presente en el sentido más amplio y comprende varias estructuras de anticuerpo que incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos (tales como vínculos con linfocitos T biespecíficos) y anticuerpos triespecíficos) y fragmentos de anticuerpos, siempre que exhiban la actividad de unión a antígeno deseada.

El término anticuerpo incluye, de modo no taxativo, fragmentos que son capaces de unirse a un antígeno, tal como Fv, Fv de cadena simple(scFv), Fab, Fab', di-scFv, sdAb (anticuerpo de dominio simple) y (Fab')₂ (lo que incluye un F(ab')₂ enlazado químicamente). La digestión de papaína de los anticuerpos produce dos fragmentos idénticos de unión al antígeno, llamados fragmentos «Fab», cada uno con un único sitio de unión al antígeno, y un fragmento «Fc» residual cuyo nombre refleja su capacidad de cristalizarse fácilmente. El tratamiento con pepsina proporciona un fragmento F(ab')₂ que tiene dos sitios de combinación de antígenos y aun así es capaz de reticular el antígeno. El término anticuerpo también incluye, de modo no taxativo, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados y anticuerpos de varias especies, tales como ratón, ser humano, mono cynomolgus, etc. Asimismo, también se contemplan construcciones de anticuerpos que se proporcionan en la presente, variantes que tienen las secuencias de otros organismos. Por lo tanto, si se divulga una versión humana de un anticuerpo, un experto en la técnica entenderá cómo transformar el anticuerpo con base en la secuencia humana en una secuencia de ratón, rata, gato, perro, caballo, etc. Los fragmentos de anticuerpo también incluyen cualquier orientación de scFv de cadena simple, di-scFv en tándem, diacuerpos, tri-sdcFv en tándem, minicuerpos, etc. Además, los fragmentos de anticuerpo incluyen nanocuerpos (sdAb, un anticuerpo con un dominio monomérico simple, tal como un par de dominios variables de cadenas pesadas sin una cadena ligera). En algunas modalidades, se puede hacer referencia a un fragmento de anticuerpo como una especie específica (por ejemplo, scFv humano o scFv de ratón). Esto indica las secuencias de al menos parte de las regiones no CDR, en lugar de la fuente de la construcción.

La expresión «anticuerpo monoclonal» hace referencia a un anticuerpo de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, es decir, los anticuerpos individuales que conforman la población son idénticos, salvo por posibles mutaciones de origen natural que se pueden encontrar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos y se dirigen a un único punto antigénico. Asimismo, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales, las que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos a diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige a un único determinante en el antígeno. Por lo tanto, una muestra de anticuerpos monoclonales se puede unir al mismo epítopo en el antígeno. El modificador «monoclonal» indica que el anticuerpo se obtuvo de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo a través de ningún método en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales se pueden producir mediante el método de hibridoma descrito en primer lugar por Kohler y Milstein, 1975, *Nature* 256:495, o mediante métodos de ADN recombinante tales como los descritos en la patente estadounidense n.º 4,816,567. También es posible aislar anticuerpos monoclonales de bibliotecas de fagos generadas mediante las técnicas descritas, por ejemplo, en McCafferty et ál., 1990, *Nature* 348:552-554.

El término «CDR» indica una región determinante de complementariedad como se define por medio del esquema de numeración de Kabat. Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a Ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, MD (1991). Los ejemplos de CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3) se producen en residuos de aminoácidos 24-34 de L1, 50-56 de L2, 89-97 de L3, 31-35B de H1, 50-65 de H2 y 95-102 de H3. También es posible proveer las CDR tal como se ilustra en una o más de las figuras adjuntas. A excepción de la CDR1 en una región de cadena pesada variable (V_H), las CDR generalmente comprenden los residuos aminoácidos que forman los bucles hipervariables. Las diversas CDR en un anticuerpo se puede designar conforme a su tipo de cadena y cantidad adecuada, lo que incluye, de modo no taxativo: a) CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3, b) CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2 y CDRH3, c) LCDR-1, LCDR-2, LCDR-3, HCDR-1, HCDR-2 y HCDR-3, o d) LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2 y HCDR3, etc. En la presente, también se utiliza «CDR» para abarcar una región hipervariable o HVR, lo que incluye bucles hipervariables. Los ejemplos de bucles hipervariables se producen en los residuos de aminoácidos 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) (Chothia y Lesk, 1987, *J. Mol. Biol.* 196:901-917.)

Tal como se utiliza en la presente, la expresión «región variable de cadena pesada» o V_H hace referencia a una región que comprende al menos tres CDR de cadena pesada. En algunas modalidades, la región variable de cadena pesada incluye las tres CDR y al menos FR2 y FR3. En algunas modalidades, la región variable de cadena pesada incluye al menos la HCDR1 de cadena pesada, el marco (FR) 2, HCDR2, FR3 y HCDR3. En algunas modalidades, una región variable de cadena pesada también comprende al menos una parte de una FR1 y/o al menos una parte de una FR4.

La expresión «región constante de cadena pesada» tal como se utiliza en la presente hace referencia a una región que comprende al menos tres dominios constantes de cadena pesada, C_H1 , C_H2 y C_H3 . Por supuesto, el alcance de la expresión «región constante de cadena pesada» abarca eliminaciones y alteraciones que no alteran la función, a menos que se indique lo contrario. Los ejemplos no taxativos de regiones constantes de cadena pesada incluyen γ , δ y α . Los ejemplos no taxativos de regiones constantes de cadena pesada también incluyen ϵ y μ . Cada región constante pesada corresponde a un isotipo de anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo que comprende una región constante γ es un anticuerpo de IgG, un anticuerpo que comprende una región constante δ es un anticuerpo de IgD, y un anticuerpo que comprende una región constante α es un anticuerpo de IgA. Además, un anticuerpo que comprende una región constante μ es un anticuerpo de IgM, y un anticuerpo que comprende una región constante ϵ es un anticuerpo de IgE. Determinados isotipos pueden subdividirse de manera adicional en subclases. Por ejemplo, los anticuerpos de IgG incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos de IgG1 (que comprenden una región constante γ_1), IgG2 (que comprende una región

constante γ_2), IgG3 (que comprende una región constante γ_3) e IgG4 (que comprende una región constante γ_4); anticuerpos de IgA incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos de IgA1 (que comprenden una región constante α_1) e IgA2 (que comprenden una región constante α_2); y anticuerpos de IgM incluyen, de modo no taxativo, IgM1 e IgM2.

5 Tal como se utiliza en la presente, la expresión «cadena pesada» hace referencia a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena pesada con una secuencia líder o sin ella. En algunas modalidades, una cadena pesada comprende al menos una parte de una región constante de cadena pesada. Tal como se utiliza en la presente, «cadena pesada de longitud completa» hace referencia a un polipéptido que comprende una región variable de cadena pesada y una región constante
10 de cadena pesada con una secuencia líder o sin ella.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión «región variable de cadena ligera» o V_L hace referencia a una región que comprende al menos tres CDR de cadena ligera. En algunas modalidades, la región variable de cadena ligera incluye las tres CDR y al menos FR2 y FR3. En algunas modalidades, la región variable de cadena ligera incluye al menos la LCDR1 de cadena ligera, el marco (FR) 2, LCDR2,
15 FR3 y LCDR3. Por ejemplo, una región variable de cadena ligera puede comprender la CDR1 de cadena ligera, el marco (FR) 2, CDR2, FR3 y CDR3. En algunas modalidades, una región variable de cadena ligera también comprende al menos una parte de una FR1 y/o al menos una parte de una FR4.

La expresión «región constante de cadena ligera» tal como se utiliza en la presente hace referencia a una región que comprende un dominio constante de cadena ligera, C_L . Los ejemplos no
20 taxativos de regiones constantes de cadena ligera incluyen λ y κ . Por supuesto, el alcance de la expresión «región constante de cadena ligera» abarca eliminaciones y alteraciones que no alteran la función, a menos que se indique lo contrario.

Tal como se utiliza en la presente, «cadena ligera» hace referencia a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena ligera con una secuencia líder o sin ella. En algunas
25 modalidades, una cadena ligera comprende al menos una parte de una región constante de cadena ligera. Tal como se utiliza en la presente, «cadena ligera de longitud completa» hace referencia a un polipéptido que comprende una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera con una secuencia líder o sin ella.

A los efectos de la presente, un «marco humano aceptor» es un marco que comprende la
30 secuencia de aminoácidos de un marco de dominio variable de cadena ligera (V_L) o de un marco de dominio variable de cadena pesada (V_H) derivado de un marco de una inmunoglobulina humana o de un marco de consenso humano, tal como se define a continuación. Un marco humano aceptor derivado de un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano puede comprender la misma secuencia de aminoácidos de estos o puede contener cambios en la secuencia de aminoácidos. En

algunas modalidades, la cantidad de cambios de aminoácidos es 10 o menos, 9 o menos, 8 o menos, 7 o menos, 6 o menos, 5 o menos, 4 o menos, 3 o menos, o 2 o menos. En algunas modalidades, el marco humano aceptor V_L es idéntico en secuencia a una secuencia marco de inmunoglobulina humana V_L o una secuencia marco de consenso humana.

- 5 «Afinidad» hace referencia 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 compañero de unión (por ejemplo, un antígeno). La afinidad de una molécula X con respecto a su compañera Y puede estar representada generalmente por la constante de disociación de equilibrio (K_D). Es posible medir la afinidad mediante métodos comunes conocidos en la técnica (tales como, por ejemplo, ELISA K_D ,
10 KinExA, interferometría de biocapa (BLI) y/o dispositivos de resonancia de plasmones superficiales (tales como un dispositivo BIACORE®), lo que incluye los descritos en la presente).

Tal como se utiliza en la presente, el término « K_D » hace referencia a la constante de disociación de equilibrio de una interacción entre anticuerpo y antígeno.

- En algunas modalidades, la « K_D » del anticuerpo se mide usando ensayos de resonancia de plasmones superficiales que usa un BIACORE®-2000 o un BIACORE®-3000 (BIAcore, Inc., Piscataway, N.J.) a 25 °C con chips CM5 de antígeno inmovilizado a ~10 unidades de respuesta (RU). En resumen, se activan chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, BIACORE Inc.) con clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC, por su sigla en inglés) y N-hidroxisuccinimida (NHS) según las instrucciones del proveedor. El antígeno se diluye con acetato de sodio 10 mM, pH 4.8, a 5
20 $\mu\text{g/ml}$ (~ 0,2 μM) antes de la inyección a una velocidad de flujo de 5 $\mu\text{L/min}$ para lograr aproximadamente 10 unidades de respuesta (RU) de proteína acoplada. Tras la inyección de antígeno, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos sin reaccionar. Para obtener medidas de cinética, se inyectaron diluciones en serie de polipéptido, por ejemplo, anticuerpo de longitud completa, en PBS con tensioactivo TWEEN-20™ al 0,05 % (PBST) a 25 °C a una velocidad de flujo de aproximadamente
25 $25 \mu\text{L/min}$. Las velocidades de asociación (k_{on}) y velocidades de disociación(k_{off}) se calculan utilizando un modelo de unión simple de Langmuir uno a uno (Software de evaluación BIACORE® versión 3.2) mediante el ajuste simultáneo del sensograma de asociación y disociación. Se calcula la constante de disociación de equilibrio (K_D) como la relación k_{off}/k_{on} . Ver, por ejemplo, Chen et ál., 1999, *J. Mol. Biol.* 293:865-881. Si la velocidad de asociación supera $10^6 \text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ en el ensayo de resonancia de plasmones superficiales mencionado anteriormente, entonces la velocidad de asociación puede determinarse con
30 una técnica de inactivación fluorescente que mide el aumento o la disminución de la intensidad de emisión de fluorescencia (excitación = 295 nm; emisión = 340 nm, 16 nm de paso banda) a 25 °C de un anticuerpo antiantígeno 20 nM en PBS, pH 7,2, en presencia de concentraciones crecientes de antígeno según la medición en un espectrómetro, tal como un espectrofotómetro equipado con detención de flujo

(Aviv Instruments) o un espectrofotómetro SLM-AMINCO™ serie 8000 (ThermoSpectronic) con una cubeta de agitación.

En algunas modalidades, la diferencia entre dichos dos valores (por ejemplo, valores K_D) es sustancialmente la misma, por ejemplo, menos de aproximadamente 50 %, menos de aproximadamente 40 %, menos de aproximadamente 30 %, menos de aproximadamente 20 % y/o menos de aproximadamente 10 % en función del valor de referencia/comparación.

En algunas modalidades, la diferencia entre dichos dos valores (por ejemplo, valores K_D) es sustancialmente diferente, por ejemplo, más de aproximadamente 10 %, más de aproximadamente 20 %, más de aproximadamente 30 %, más de aproximadamente 40 % y/o más de aproximadamente 50 % en función del valor para la molécula de referencia/comparación.

«Resonancia de plasmones superficiales» indica un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones biespecíficas en tiempo real mediante la detección de alteraciones en concentraciones proteicas dentro de una matriz de biosensores, por ejemplo, usando el sistema BIAcore™ BIAcore International AB, a GE Healthcare company, Uppsala, Suecia y Piscataway, N.J.). Para obtener descripciones adicionales, véase Jonsson et ál., 1993, *Ann. Biol. Clin.* 51:19-26.

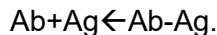
«Interferometría de biocapa» hace referencia a una técnica de análisis óptico que analiza el patrón de interferencia de luz reflejada de una capa de proteína inmovilizada en una punta de un biosensor y una capa de referencia interna. Los cambios en la cantidad de moléculas vinculadas a la punta del biosensor provocan variaciones en el patrón de interferencia que se pueden medir en tiempo real. El dispositivo de ejemplo no taxativo para interferometría de biocapa es el sistema RED96 FORTEBIO® OCTET® (Pall Corporation). Véase, por ejemplo, Abdiche et ál., 2008, *Anal. Biochem.* 377: 209-277.

Tal como se utiliza en la presente, el término « k_{on} » hace referencia a la constante de velocidad para la asociación de un anticuerpo a un antígeno. Específicamente, las constantes de velocidad (k_{on} y k_{off}) y las constantes de disociación de equilibrio (K_D) se miden con IgG (bivalentes) con antígeno monovalente (por ejemplo, antígeno LILRB2). En la presente, se utilizan « K_{on} », « k_{on} », «constante de velocidad de asociación» o « k_a » de forma intercambiable. El valor indica la velocidad de unión de una proteína de unión a su antígeno diana o la velocidad de formación de complejos entre un anticuerpo y un antígeno, tal como lo ilustra la ecuación:



Tal como se utiliza en la presente, el término « k_{off} » hace referencia a la constante de velocidad para la disociación de un anticuerpo del complejo de anticuerpos y antígenos. También se hace referencia a k_{off} como « K_{off} » o «constante de velocidad de disociación». Este valor indica la velocidad de

disociación de un anticuerpo de su antígeno diana o la separación del complejo Ab-Ag con el transcurso del tiempo en antígeno y anticuerpo libre, tal como lo muestra la ecuación:



La expresión «actividad biológica» hace referencia a una o más propiedades biológicas de una molécula (ya sea que se encuentren presentes naturalmente in vivo o provistas o posibilitadas por medios recombinantes). Las propiedades biológicas incluyen, de modo no taxativo, unir un receptor, inducir la proliferación celular, inhibir el crecimiento celular, inducir la maduración o activación (por ejemplo, maduración o activación de células mieloides), inhibir la maduración o activación (por ejemplo, maduración o activación de células mieloides), inducir la expresión o secreción de citocinas (por ejemplo, citocinas inflamatorias o citocinas inmunosupresoras), inducir apoptosis y actividad enzimática. En algunas modalidades, la actividad biológica de una proteína LILRB2 incluye, por ejemplo, la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

Un «macrófago similar a M2», tal como se utiliza en la presente, hace referencia a un macrófago caracterizado por una o más características inmunosupresoras relativas a una referencia. Las características inmunosupresoras incluyen menor expresión de marcadores de activación o marcadores de maduración (por ejemplo, menor expresión de uno o más marcadores coestimuladores (por ejemplo, CD80 o CD86), menor presentación de antígenos (por ejemplo, mediante expresión de HLA), menor expresión de citocinas inflamatorias (por ejemplo, TNF α , IL-6 o IL-1 β) y mayor expresión de marcadores reguladores o supresores (por ejemplo, mayor expresión o secreción de IL-10 o CCL-2). Las características inmunosupresoras pueden caracterizarse de manera adicional o alternativa mediante disminución en la expresión génica inmunogénica o inflamatoria o aumento en la expresión génica inmunosupresora o inmunorreguladora, de acuerdo con los métodos que se conocen en la técnica. Las características inmunosupresoras pueden caracterizarse de forma adicional o alternativa por una o más cualidades, tal como la capacidad de inhibir la activación y/o la expansión de otras células inmunitarias. Los ensayos adecuados para identificar un macrófago como un macrófago similar a M2 se conocen en la técnica y se describen en la presente. Por ejemplo, es posible usar un ensayo de macrófagos humanos primarios para determinar si un macrófago es un macrófago similar a M2 o un macrófago similar a M1. En algunos casos, un macrófago similar a M2 es un macrófago asociado al tumor. En el contexto de determinar si un macrófago es un macrófago similar a M2, se puede proporcionar una referencia por medio de un macrófago de control del mismo origen o uno diferente (por ejemplo, un control no tratado o un control tratado con LPS). En modalidades en las que un macrófago candidato es un macrófago asociado al tumor, un control puede ser un macrófago asociado a un no tumor (por ejemplo, de un donante saludable). De manera alternativa, una referencia puede ser un umbral predeterminado, por ejemplo, un parámetro derivado de un umbral inmunosupresor conocido en la técnica.

Un «macrófago similar a M1», tal como se utiliza en la presente, hace referencia a un macrófago caracterizado por una o más características inmunogénicas (por ejemplo, inmunoestimuladoras o activadoras) relativas a una referencia. Las características inmunogénicas incluyen mayor expresión de marcadores de activación o marcadores de maduración (por ejemplo, mayor expresión de uno o más marcadores coestimuladores (por ejemplo, CD80 o CD86), mayor presentación de antígenos (por ejemplo, mediante expresión de HLA), mayor expresión de citocinas inflamatorias (por ejemplo, TNF α , IL-6 o IL-1 β) y menor expresión de marcadores reguladores o supresores (por ejemplo, menor expresión o secreción de IL-10 o CCL-2). Las características inmunogénicas pueden caracterizarse de manera adicional o alternativa mediante el aumento en la expresión génica inmunogénica o inflamatoria o disminución en la expresión génica inmunosupresora o inmunorreguladora, de acuerdo con los métodos que se conocen en la técnica. Las características inmunogénicas pueden caracterizarse de forma adicional o alternativa por una o más cualidades funcionales, tal como la capacidad de activar y/o expandir otras células inmunitarias. Los ensayos adecuados para identificar un macrófago como un macrófago similar a M1 se conocen en la técnica y se describen en la presente. Por ejemplo, es posible usar un ensayo de macrófagos humanos primarios para determinar si un macrófago es un macrófago similar a M2 o un macrófago similar a M1. En algunos casos, un macrófago similar a M1 es un macrófago asociado al tumor (por ejemplo, un macrófago asociado al tumor que se expuso a un anticuerpo para LILRB2). En el contexto de determinar si un macrófago es un macrófago similar a M1, se puede proporcionar una referencia por medio de un macrófago de control del mismo origen o uno diferente (por ejemplo, un control no tratado o un control inmunodeprimido). En modalidades en las que un macrófago candidato es un macrófago asociado al tumor, un control puede ser un macrófago asociado a un no tumor (por ejemplo, de un donante saludable). De manera alternativa, una referencia puede ser un umbral predeterminado, por ejemplo, un parámetro derivado de un umbral inmunogénico conocido en la técnica.

La «conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1» puede identificarse tras la detección de un aumento en cualquiera de una o más características de un macrófago similar a M1, una disminución de cualquiera de una o más características de un macrófago similar a M2, o cualquier combinación de estos.

Tal como se utiliza en la presente, un «macrófago derivado de monocitos humanos», un «macrófago diferenciado de monocitos humanos» o un «HMDM» hace referencia a un macrófago que derivó de un monocito humano primario. En algunas modalidades, el macrófago humano primario deriva de monocitos de la sangre entera (por ejemplo, de una población de PBMC). En algunas modalidades, los monocitos humanos primarios se incuban en presencia de M-CSF durante siete días. Un macrófago derivado de monocitos humanos se puede obtener usando los métodos descritos en el Ejemplo 6.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión «ensayo de bloqueo de tetrámeros» hace referencia a un ensayo que incluye las siguientes etapas:

(1) poner en placas 1×10^5 de macrófagos (por ejemplo, macrófagos diferenciados de monocitos humanos (HMDM)) en un pocillo de una placa de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos;

(2) agregar 50 μL de anticuerpo de prueba (por ejemplo, anticuerpo LILRB2 o control de isotipo) en amortiguador (por ejemplo, amortiguador FACS (1xDPBS que contiene HI-FBS al 2 % (Sigma) + azida sódica al 0,05 %));

(3) incubar 30 minutos a 4 °C;

(4) lavar las células en amortiguador (por ejemplo, amortiguador FACS) y volver a suspender en 50 μL de amortiguador (por ejemplo, amortiguador FACS) que contiene 1 $\mu\text{g/mL}$ de tetrámero (por ejemplo, tetrámero etiquetado con fluorocromo, por ejemplo, tetrámero HLA-G o HLA-A2);

(5) incubar protegido de la luz durante 30-60 minutos a 4 °C;

(6) lavar células en amortiguador (por ejemplo, amortiguador FACS); y

(7) cuantificar la unión al tetrámero (por ejemplo, usando citometría de flujo).

Tal como se utiliza en la presente, un «anticuerpo quimérico» hace referencia a un anticuerpo en el que una parte de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie particular, al tiempo que al menos parte del resto de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie diferente. En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico hace referencia a un anticuerpo que comprende al menos una región variable de una primera especie (tal como ratón, rata, mono cynomolgus, etc.) y al menos una región constante de una segunda especie (tal como seres humanos, mono cynomolgus,)) En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable de ratón y al menos una región constante humana. En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable de cynomolgus y al menos una región constante humana. En algunas modalidades, todas las regiones variables de un anticuerpo quimérico son de una primera especie y todas las regiones constantes del anticuerpo quimérico son de una segunda especie. La construcción quimérica también puede ser un fragmento funcional, tal como se indicó anteriormente.

Tal como se utiliza en la presente, un «anticuerpo humanizado» hace referencia a un anticuerpo en el que se ha reemplazado al menos un aminoácido en una región marco de una región variable no humana con el aminoácido correspondiente de una región variable humana. En algunas modalidades, un anticuerpo humanizado comprende al menos una región constante humana o un fragmento de esta. En algunas modalidades, un anticuerpo humanizado es un fragmento de anticuerpo tal como Fab, un scFv, a (Fab')₂, etc. El término humanizado indica también formas de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) que son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulina o fragmentos de

estas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión al antígeno de anticuerpos) que contienen secuencias mínimas de inmunoglobulina no humana. Los anticuerpos humanizados pueden incluir inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las que se sustituyen residuos de una región determinante de complementariedad (CDR) del receptor con residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante), tal como ratón, rata o conejo, con la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunas instancias, los residuos de región marco (FR) de Fv de la inmunoglobulina humana son reemplazados por residuos no humanos correspondientes. Asimismo, el anticuerpo humanizado puede comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las secuencias marco o CDR importadas, pero que se incluyen para refinar y optimizar adicionalmente el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado puede comprender sustancialmente todos de al menos uno y usualmente dos dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a aquellas de inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son aquellas de una secuencia de consenso de inmunoglobulina humana. En algunas modalidades, el anticuerpo humanizado puede comprender al menos una parte de un dominio o región constante de inmunoglobulina (Fc), usualmente de una inmunoglobulina humana. Otras formas de anticuerpos humanizados tienen una o más CDR (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 y/o CDR H3) alteradas respecto al anticuerpo original, lo que también se expresa como una o más CDR «derivadas de» una o más CDR del anticuerpo original. Tal como se podrá observar, es posible identificar una secuencia humanizada mediante su secuencia primaria y no indica necesariamente el proceso mediante el que se creó el anticuerpo.

Tal como se utiliza en la presente, un «anticuerpo con injerto de CDR» hace referencia a un anticuerpo humanizado en el que se injertan una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una primera especie (no humana) que se inserta en las regiones marco (FR) de una segunda especie.

Tal como se utiliza en la presente, «anticuerpo humano» abarca anticuerpos producidos en humanos, anticuerpos producidos en animales no humanos que comprenden genes de inmunoglobulina humana, tales como ratones XENOMOUSE®, y anticuerpos seleccionados mediante métodos in vitro, tales como expresión de fagos (Vaughan et ál., 1996, *Nature Biotechnology*, 14:309- 314; Sheets et ál., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. (EUA)*, 95:6157-6162; Hoogenboom y Winter, 1991, *J. Mol. Biol.*, 227:381; Marks et ál., 1991, *J. Mol. Biol.*, 222:581), en los que el repertorio de anticuerpos se basa en una secuencia de inmunoglobulina humana. La expresión «anticuerpo humano» indica el género de secuencias que son secuencias humanas. Por lo tanto, la expresión no indica el proceso mediante el cual se creó el anticuerpo, sino el género de secuencias que son relevantes.

Una «región Fc funcional» posee una «función efectora» de una región Fc de secuencia natural. Las «funciones efectoras» de ejemplo incluyen unión al receptor de Fc; unión a C1q; CDC; ADCC; fagocitosis; regulación por disminución de receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B; BCR), etc. Dichas funciones efectoras requieren generalmente que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo) y puede evaluarse usando diversos ensayos.

Una «región Fc de secuencia nativa» comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc que se encuentra en la naturaleza. Las regiones Fc humanas de secuencia natural incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia natural (alotipos A y no A); una región Fc de IgG2 humana de secuencia natural; una región Fc de IgG3 humana de secuencia natural; y una región Fc de IgG4 humana de secuencia natural, así como variantes de origen natural de estas.

Una «región Fc variante» comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la región Fc de secuencia natural en virtud de al menos una modificación de aminoácido. En algunas modalidades, una «región Fc variante» comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la región Fc de secuencia natural en virtud de al menos una modificación de ácido nucleico, pero que retiene al menos una función efectora de la región Fc de secuencia natural. En algunas modalidades, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácido en comparación con una región Fc de secuencia natural o con la región Fc de un polipéptido original, por ejemplo, de alrededor de una a alrededor de diez sustituciones de aminoácidos y preferentemente de alrededor de una a alrededor de cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia natural o en la región Fc del polipéptido original. En algunas modalidades, la región Fc variante en la presente tendrá al menos alrededor de 80 % de identidad de secuencia con una región Fc de secuencia natural y/o con una región Fc de un polipéptido original, al menos alrededor de 90 % de identidad de secuencia, al menos alrededor de 95 % de homología, al menos alrededor de 96 % de identidad de secuencia, al menos alrededor de 97 % de identidad de secuencia, al menos alrededor de 98 % de identidad de secuencia o al menos alrededor de 99 % de identidad de secuencia.

«Receptor de Fc» o «FcR» describe un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. En algunas modalidades, un FcγR es un FcR humano natural. En algunas modalidades, un FcR se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcγRI, FcγRII o FcγRIII, lo que incluye variantes alélicas y, de manera alternativa, formas escindidas de dichos receptores. Los receptores FcγRII incluyen FcγRIIA (un «receptor de activación») y FcγRIIB (un «receptor inhibidor»), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en sus dominios citoplásmicos. La activación del receptor FcγRIIA contiene un motivo de activación basado en el inmunorreceptor de

tirosina (ITAM) en su dominio citoplasmático. El receptor de inhibición FcγRIIB contiene un motivo de inhibición basado en el inmunorreceptor de tirosina (ITIM) en su dominio citoplasmático. Ver, por ejemplo, *Daeron, 1997, Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234. Los FcR se analizan, por ejemplo, en Ravetch y Kinet, 1991 *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92; Capel et ál., 1994, *Immunomethods*, 4:25-34; y de Haas et ál., 1995, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41. El término «FcR» abarca otros FcR, incluidos los que se identifiquen en el futuro, en la presente.

La expresión «receptor de Fc» o «FcR» también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto (Guyer et ál., 1976, *J. Immunol.* 117:587 y Kim et ál., 1994, *J. Immunol.* 24:249) y la regulación de la homeostasis de inmunoglobulinas. Se conocen los métodos para medir la unión a FcRn. Véase, por ejemplo, Ghetie y Ward, 1997, *Immunol. Today*, 18(12):592-598; Ghetie et ál., 1997, *Nat. Biotechnol.*, 15(7):637-640; Hinton et ál., 2004, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216; y WO 2004/92219 (Hinton et ál.).

«Funciones efectoras» hace referencia a las actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, las que varían con el isotipo de anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen: unión a Clq y citotoxicidad dependiente de complementos (CDC), unión al receptor de Fc, la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC, por su sigla en inglés), fagocitosis, regulación por disminución de receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B) y activación de linfocitos B.

La «citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos» o «ADCC» hace referencia a una forma de citotoxicidad en la que la Ig secretada unida a receptores de Fc (FcR) presentes en determinadas células citotóxicas (por ejemplo, células NK, neutrófilos y macrófagos) permite que estas células efectoras citotóxicas se unan específicamente a una célula diana con antígenos y, posteriormente, destruyan la célula diana con citotoxinas. Las células primarias para mediar la ADCC, las células NK, solo expresan FcγRIII, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión del FcR en células hematopoyéticas se resume en la Tabla 3, página 464 de Ravetch y Kinet, 1991, *Annu. Rev. Immunol* 9:457-92. Para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés, se puede llevar a cabo un ensayo ADCC in vitro, tal como el que se describe en las patentes estadounidenses N.º 5,500,362, 5,821,337 o 6,737,056 (Presta). Las células efectoras útiles para esos ensayos incluyen PBMC y células NK. De manera alternativa o adicional, la actividad de ADCC de la molécula de interés puede evaluarse in vivo, por ejemplo, en un modelo animal, tal como el descrito en Clynes et ál., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. (EUA)* 95:652-656. Se describen variantes de polipéptidos adicionales con secuencias de aminoácidos de región Fc alterada (polipéptidos con una región Fc variante) y mayor o menor actividad ADCC, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,923,538; y la patente estadounidense n.º 7,994,290.

La «citotoxicidad dependiente del complemento» o «CDC» se refiere a la lisis de una célula diana en presencia del complemento. La activación de la vía de complemento clásica comienza mediante la unión del primer componente del sistema de complementos (C1q) a anticuerpos (de la subclase adecuada), que se unen a su antígeno cognado. Para evaluar la activación del complemento, se puede llevar a cabo un ensayo de CDC, por ejemplo, tal como se describe en Gazzano-Santoro et ál., 1996, *J. Immunol. Methods* 202:163. Se describen variantes de polipéptidos con secuencias de aminoácidos de región Fc alterada (polipéptidos con una región Fc variante) y mayor o menor capacidad de unión a C1q, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 6,194,551 B1, la patente estadounidense n.º 7,923,538, la patente estadounidense n.º 7,994,290 y WO 1999/51642. Véase, por ejemplo, Idusogie et ál., 2000, *J. Immunol.* 164: 4178-4184.

Una variante de polipéptido con actividad de ADCC o afinidad de unión a FcR «alterada» es una con mayor o menor actividad de ADCC o afinidad de unión a FcR en comparación con un polipéptido original o un polipéptido que comprende una región Fc de secuencia natural. La variante de polipéptido que «exhibe mayor unión» a un FcR se une a al menos un FcR con mejor afinidad que el polipéptido original. La variante de polipéptido que «exhibe menor unión» a un FcR se une a al menos un FcR con menor afinidad que un polipéptido original. Dichas variantes que expresan reducción de unión a un FcR pueden presentar poca unión apreciable a un FcR o ninguna, por ejemplo, 0- 20 % de unión al FcR en comparación con una región Fc de IgG de secuencia natural.

La variante de polipéptido que «media la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) en presencia de células efectoras humanas de forma más eficaz» que un anticuerpo original es uno que es más eficaz *in vitro* o *in vivo* para mediar ADCC cuando las cantidades de variante de polipéptido y anticuerpo original utilizadas en el ensayo son esencialmente las mismas. En general, se identificarán dichas variantes con el ensayo de ADCC *in vitro*, tal como se describió en la presente, pero se contemplan otros ensayos o métodos para determinar la actividad de ADCC, por ejemplo, en un modelo animal, etc.

Tal como se utilizan en la presente, «sustancialmente similar» o «sustancialmente igual» indican un grado suficientemente elevado de similitud entre dos o más valores numéricos, de forma que un experto en la técnica consideraría que la diferencia entre los dos o más valores tendría poca importancia biológica y/o estadística, o ninguna, en el contexto de las características biológicas medidas por dicho valor. En algunas modalidades, los dos o más valores sustancialmente similares difieren en no más de alrededor de cualquiera de 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % o 50 %.

La frase «sustancialmente diferente», tal como se usa en la presente, indica un grado suficientemente elevado de diferencia entre dos valores numéricos, de forma que un experto en la técnica consideraría que la diferencia entre los dos valores tendría importancia estadística y/o biológica

en el contexto de las características biológicas medidas por dichos valores. En algunas modalidades, los dos valores sustancialmente diferentes difieren en más de alrededor de cualquiera de 10 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 %.

La frase «sustancialmente reducido», tal como se usa en la presente, indica un grado
 5 suficientemente elevado de reducción entre un valor numérico y un valor numérico de referencia, de forma que un experto en la técnica consideraría que la diferencia entre los dos valores tendría importancia estadística y/o biológica en el contexto de las características biológicas medidas por dichos valores. En algunas modalidades, los valores numéricos sustancialmente reducidos se reducen más de
 10 alrededor de cualquiera de 10 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en comparación con el valor de referencia.

La expresión «secuencia líder» hace referencia a una secuencia de residuos aminoácidos ubicados en el extremo N de un polipéptido que facilita la secreción de un polipéptido de una célula de mamífero. Es posible escindir una secuencia líder al exportar el polipéptido de la célula de mamífero y formar una proteína madura. Las secuencias líderes pueden ser naturales o sintéticas y pueden ser
 15 heterólogas u homólogas respecto a la proteína a la que se unen.

Un polipéptido de «secuencia natural» comprende un polipéptido con la misma secuencia de aminoácidos que un polipéptido que se encuentra en la naturaleza. Por lo tanto, un polipéptido de secuencia natural puede tener la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de origen natural de cualquier mamífero. Dichos polipéptidos de secuencia natural se pueden aislar de la naturaleza o se
 20 pueden producir mediante medios recombinantes o sintéticos. El polipéptido de «secuencia natural» comprende específicamente formas secretadas o trunca de origen natural del polipéptido (por ejemplo, una secuencia de dominio extracelular), formas variantes de origen natural (por ejemplo, formas escindidas de forma alternativa) y variantes alélicas de origen natural del polipéptido.

Una «variante» de polipéptido significa un polipéptido biológicamente activo con al menos 80 %
 25 de identidad de secuencia de aminoácidos con el polipéptido de secuencia natural luego de alinear las secuencias e introducir espacios, si fuera necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin considerar cualesquiera sustituciones conservativas como parte de la identidad de secuencia. Dichas variantes incluyen, por ejemplo, polipéptidos en los que se agregan o se eliminan uno o más residuos aminoácidos en el extremo N o C del polipéptido. En algunas modalidades, una variante
 30 tendrá al menos alrededor de 80 % de identidad de secuencia de aminoácidos. En algunas modalidades, una variante tendrá al menos alrededor de 90 % de identidad de secuencia de aminoácidos. En algunas modalidades, una variante tendrá al menos alrededor de 95 % de identidad de secuencia de aminoácidos con el polipéptido de secuencia natural.

Tal como se utilizan en la presente, el «porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos» y «homología» con respecto a una secuencia de polipéptido, péptido o anticuerpo se definen como el porcentaje de residuos aminoácidos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos o péptidos específica después de alinear las secuencias e introducir espacios, si fuera necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin considerar ninguna sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. La alineación a efectos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de diversas formas conocidas por el experto en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de software informático disponible al público, tal como el software BLAST, BLAST-2, ALIGN o MEGALIGN™ (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar parámetros adecuados para medir la alineación, lo cual incluye cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima en la longitud completa de las secuencias que se comparan.

Una sustitución de aminoácidos puede incluir, de modo no taxativo, el reemplazo de un aminoácido en un polipéptido con otro aminoácido. Se muestran ejemplos de sustituciones en la Tabla 1. Se pueden introducir sustituciones de aminoácidos en un anticuerpo de interés y analizar los productos para determinar una actividad deseada, por ejemplo, mantenimiento/mejora de unión a antígenos, inmunogenicidad disminuida o ADCC o CDC mejorados.

Tabla 1.

Residuo original	Ejemplos de sustituciones
Ala (A)	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn; Glu
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu; Phe; Ile

Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Val; Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucina

Es posible agrupar los aminoácidos de acuerdo con propiedades comunes de sus cadenas laterales:

(1) hidrofóbicos: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) hidrofílicos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

5 (3) ácidos: Asp, Glu;

(4) básicos: His, Lys, Arg;

(5) residuos que afectan la orientación de la cadena: Gly, Pro;

(6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

10 Las sustituciones no conservativas implican el intercambio de un miembro de una de estas clases por otra clase.

El término «vector» se utiliza para describir un polinucleótido que se puede modificar para contener un polinucleótido clonado o polinucleótidos que se pueden propagar en una célula hospedadora. Un vector puede incluir uno o más de los siguientes elementos: un origen de replicación, una o más secuencias de regulación (tales como, por ejemplo, promotores y/o potenciadores) que regulan la expresión del polipéptido de interés y/o uno o más genes de marcadores seleccionables (tales como, por ejemplo, genes de resistencia a antibióticos y genes que se pueden emplear en ensayos de colorimetría, por ejemplo, β -galactosidasa). El «vector de expresión» hace referencia a un vector que se utiliza para expresar un polipéptido de interés en una célula hospedadora.

20 Una «célula hospedadora» hace referencia a una célula que puede recibir o que recibió un vector o un polinucleótido aislado. Las células hospedadoras pueden ser células procariotas o células eucariotas. Los ejemplos de células eucariotas incluyen células de mamíferos, tales como células de animales primates o no primates, células fúngicas, tales como levadura, células vegetales y células de insectos. Los ejemplos de células de mamífero incluyen, de modo no taxativo, células NSO, células PER.C6® (Crucell) y células 293 y CHO, y sus derivados, tales como células 293-6E y DG44, respectivamente. Las células hospedadoras incluyen la progenie de una única célula hospedadora y la progenie puede no necesariamente ser completamente idéntica (en su morfología o en complemento de ADN genómico) a la célula progenitora original debido a mutaciones naturales, accidentales o

deliberadas. Una célula hospedadora incluye células transfectadas *in vivo* con uno o más polinucleótidos provistos en la presente.

Tal como se utiliza en la presente, el término «aislado» hace referencia a una molécula que se separó de al menos algunos de los componentes con los que se suele producir o encontrar en la naturaleza. Por ejemplo, un polipéptido se denomina «aislado» cuando se separa de al menos algunos de los componentes de la célula en la que se produjo. En el caso de que una célula secrete un polipéptido después de la expresión, se considera que la separación física del sobrenadante que contiene el polipéptido de la célula que lo produjo implica «aislar» el polipéptido. De manera similar, se hace referencia a un polinucleótido como «aislado» cuando no forma parte de un polinucleótido mayor (tal como, por ejemplo, ADN genómico o ADN mitocondrial, en el caso de un polinucleótido de ADN) en el que se suele encontrar en la naturaleza o se separa de al menos algunos de los componentes de la célula en la que se produjo, por ejemplo, en el caso de un polinucleótido de ARN. Por lo tanto, es posible hacer referencia a un polinucleótido de ADN contenido en un vector dentro de una célula hospedadora como «aislado».

En la presente, se utilizan los términos «individuo» o «sujeto» de forma intercambiable para hacer referencia a un animal, por ejemplo, un mamífero. En algunas modalidades, se proveen métodos para tratar mamíferos que incluyen, de modo no taxativo, humanos, roedores, simios, felinos, caninos, equinos, bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, mamíferos de laboratorio, mamíferos de granja, mamíferos que participan en deportes y mamíferos que cumplen el rol de mascota. En algunos ejemplos, un «individuo» o «sujeto» hace referencia a un individuo o sujeto que requiere tratamiento para una enfermedad o trastorno. En algunas modalidades, el sujeto que recibe el tratamiento puede ser un paciente, lo que indica que se identificó que el sujeto padece de un trastorno relevante para el tratamiento o se encuentra en riesgo de contraer el trastorno.

Tal como se utilizan en la presente, «enfermedad» o «trastorno» hacen referencia a una afección que requiere y/o para la que se desea tratamiento.

Tal como se utilizan en la presente, «cáncer» y «tumor» son términos intercambiables que hacen referencia a cualquier proliferación o crecimiento de tejidos o células inusual en un animal. Tal como se utilizan en la presente, «cáncer» y «tumor» comprenden cánceres hematológicos/linfáticos y sólidos, y también comprenden un crecimiento maligno, premaligno y benigno, tal como displasia. Los ejemplos de cánceres incluyen, de modo taxativo, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los ejemplos no taxativos más particulares de dichos cánceres incluyen, cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales, por ejemplo, carcinoma de células renales papilares), cáncer de células escamosas, mesotelioma, teratoma, cáncer pulmonar microcítico, cáncer hipofisario, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no

microcítico, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma escamoso pulmonar), cáncer peritoneal, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal (por ejemplo, cáncer de estómago), cáncer pancreático, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer rectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, timoma, carcinoma hepático, cáncer cerebral, glioma, glioblastoma, cáncer de endometrio, cáncer testicular, colangiocarcinoma, colangiosarcoma, carcinoma de la vesícula biliar, cáncer gástrico, melanoma (por ejemplo, melanoma uveal), feocromocitoma, paraganglioma, carcinoma adenoideo quístico y diversos tipos de cánceres de cabeza y cuello (por ejemplo, el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello).

Tal como se usa en la presente, «tratamiento» es un enfoque para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Tal como se utiliza en la presente, «tratamiento» abarca cualquier administración o aplicación de un compuesto terapéutico para una enfermedad en un mamífero, lo que incluye un humano. A efectos de la presente descripción, los resultados clínicos deseados o beneficiosos, incluyen, de modo no taxativo, uno o más cualesquiera de: alivio de uno o más síntomas, reducción de la extensión de la enfermedad, prevención o retraso de la extensión (por ejemplo, metástasis, por ejemplo, metástasis pulmonar o en los ganglios linfáticos) de la enfermedad, prevención o retraso de recidiva de la enfermedad, retraso o enlentecimiento de la evolución de la enfermedad, mejora del estado de la enfermedad y remisión (ya sea parcial o total). «Tratamiento» también comprende una reducción de consecuencias patológicas de una enfermedad proliferativa. Los métodos provistos en la presente contemplan uno o más cualesquiera de dichos aspectos del tratamiento. En línea con lo anterior, el término tratamiento no requiere la remoción al cien por ciento de todos los aspectos del trastorno.

«Mejora» significa la reducción o mejora de uno o más síntomas en comparación con la ausencia de administración de un anticuerpo anti-LILRB2. La «mejora» también incluye el acortamiento o reducción de la duración de un síntoma.

En el contexto del cáncer, «tratar» incluye cualquiera o todos de: inhibir el crecimiento de las células cancerosas, inhibir la replicación de las células cancerosas, reducir la carga tumoral general y mejorar uno o más síntomas asociados con la enfermedad.

«Muestra biológica» significa una cantidad de una sustancia de un sujeto vivo o que estuvo vivo en el pasado. Dichas sustancias incluyen, de modo no taxativo, sangre (por ejemplo, sangre entera), plasma, suero, orina, fluido amniótico, fluido sinovial, células endoteliales, leucocitos, monocitos, otras células, órganos, tejidos, médula ósea, ganglios linfáticos y bazo.

El término «control» hace referencia a una composición de la que se sabe que no contiene un analito (control negativo) o que contiene un analito (control positivo). Un control positivo puede comprender una concentración conocida de analito. «Control», «control positivo» y «calibrador» se pueden utilizar de forma intercambiable en la presente para hacer referencia a una composición que comprende una concentración conocida de analito. Es posible utilizar un control positivo para establecer características de rendimiento de un ensayo y es un indicador útil de la integridad de los reactivos (por ejemplo, analitos).

En general, «límite predeterminado» y «nivel predeterminado» hacen referencia a un valor de corte de ensayo que se utiliza para evaluar los resultados de eficacia terapéutica/evolución/diagnóstico mediante la comparación de los resultados del ensayo con el nivel/corte predeterminado, en cuyo caso, el nivel/límite predeterminado se ha vinculado o asociado con varios parámetros clínicos (por ejemplo, gravedad de la enfermedad, evolución, no evolución, mejora, etc.). Aunque la presente divulgación puede brindar ejemplos de niveles predeterminados, se sabe que los valores de corte pueden variar conforme a la naturaleza del inmunoensayo (por ejemplo, anticuerpos empleados, etc.). También se sabe que un experto en la técnica podrá adaptar la divulgación de la presente para otros inmunoensayos para obtener valores de corte específicos para ensayos para aquellos otros ensayos basados en la presente divulgación. Aunque el valor preciso del nivel de corte predeterminado puede variar entre ensayos, las correlaciones descritas en la presente (si las hubiera) pueden ser generalmente aplicables.

Los términos «inhibición» o «inhibir» hacen referencia a una reducción o cese de cualquier característica fenotípica o a la reducción o cese de la incidencia, grado o probabilidad de dicha característica. «Reducir» o «inhibir» implica disminuir, reducir o detener una actividad, función y/o cantidad en comparación con una referencia. En algunas modalidades, «reducir» o «inhibir» significa la capacidad de causar una reducción general de 20 % o más. En algunas modalidades, «reducir» o «inhibir» significa la capacidad de causar una reducción general de 50 % o más. En algunas modalidades, «reducir» o «inhibir» significa la capacidad de causar una reducción general de 75 %, 85 %, 90 %, 95 % o más. En algunas modalidades, se inhibe o se reduce la cantidad anteriormente indicada durante un transcurso de tiempo, respecto a la dosis de control (tal como un placebo) en el mismo período de tiempo. Tal como se utiliza en la presente, una «referencia» hace referencia a cualquier muestra, estándar o nivel que se utiliza con fines de comparación. Es posible obtener una referencia de una muestra sana y/o sin enfermedad. En algunos ejemplos, es posible obtener una referencia de una muestra no tratada. En algunos ejemplos, se obtiene una referencia de una muestra sin enfermedad o no tratada de un sujeto. En algunos ejemplos, se obtiene una referencia de uno o más individuos sanos que no son el sujeto o paciente.

Tal como se usa en la presente, «retrasar el desarrollo de una enfermedad» significa postergar, impedir, enlentecer, retardar, estabilizar, suprimir y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (tal como cáncer). Este retraso puede tener extensiones variables de tiempo en función del historial de la enfermedad y/o el individuo en tratamiento. Como es evidente para el experto en la técnica, un retraso
5 suficiente o considerable puede implicar efectivamente la prevención, en el sentido de que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, se puede retrasar un cáncer en etapa avanzada, como el desarrollo de metástasis.

Tal como se utiliza en la presente, «prevenir» incluye la provisión de profilaxis respecto a la aparición o reaparición de una enfermedad en un sujeto que puede tener predisposición a la enfermedad,
10 pero que aún no tiene diagnóstico de padecimiento de la enfermedad. A menos que se indique lo contrario, los términos «reducir,» «inhibir» o «prevenir» no indican ni requieren la prevención total todo el tiempo.

Tal como se utiliza en la presente, «suprimir» una función o actividad implica reducir la función o actividad en comparación a condiciones que son iguales, salvo por una condición o parámetro de interés
15 o, de manera alternativa, en comparación con otra condición. Por ejemplo, un anticuerpo que suprime el crecimiento tumoral reduce la tasa de crecimiento del tumor en comparación con la tasa de crecimiento del tumor en ausencia del anticuerpo.

Una «cantidad terapéuticamente eficaz» de una sustancia/molécula, agonista o antagonista puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de enfermedad, edad, sexo y peso del
20 individuo, y la capacidad de la sustancia/molécula, agonista o antagonista para generar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una cantidad para la que los efectos terapéuticamente beneficiosos superan cualquier efecto tóxico o perjudicial de la sustancia/molécula, agonista o antagonista. Es posible administrar una cantidad terapéuticamente eficaz en una o más administraciones. Una cantidad terapéuticamente eficaz hace referencia a una cantidad
25 eficaz, en dosis y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico y/o profiláctico deseado.

Una «cantidad profilácticamente eficaz» hace referencia a una cantidad eficaz, en las dosificaciones y durante los períodos de tiempo necesarios, para alcanzar el resultado profiláctico deseado. Comúnmente, aunque no necesariamente, dado que se utiliza una dosis profiláctica en sujetos
30 antes o en una etapa temprana de la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

Las expresiones «formulación farmacéutica» y «composición farmacéutica» hacen referencia a una preparación en forma tal que permite que la actividad biológica del ingrediente activo sea eficaz y

que no contiene ningún componente adicional inaceptablemente tóxico para un sujeto al cual se administraría la formulación. Dichas formulaciones pueden ser estériles.

Un «portador farmacéuticamente aceptable» hace referencia a un diluyente, material encapsulante auxiliar de formulación, portador o relleno sólido, semisólido o líquido no tóxico convencionales en la técnica que se utilizan con un agente terapéutico y que, en conjunto, comprenden una «composición farmacéutica» que se administra a un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable no es tóxico para los receptores en las dosificaciones y concentraciones empleadas y es compatible con otros ingredientes de la formulación. El portador farmacéuticamente aceptable es adecuado para la formulación empleada.

Una formulación «estéril» es aséptica o esencialmente libre de microorganismos vivos y sus esporas.

Una «terapia con PD-1» abarca cualquier terapia que module la unión de PD-1 a PD-L1 y/o PD-L2. Las terapias con PD-1 pueden, por ejemplo, interactuar directamente con PD-1 y/o PD-L1. En algunas modalidades, una terapia con PD-1 incluye una molécula que se une directamente a la actividad o PD-1 y/o influye en ella. En algunas modalidades, una terapia con PD-1 incluye una molécula que se une directamente a la actividad o PD-L1 y/o influye en ella. Por lo tanto, un anticuerpo que se une a PD-1 o PD-L1 y bloquea la interacción del PD-1 con PD-L1 es una terapia con PD-1. Cuando se diseña un subtipo deseado de la terapia con PD-1, se nombrará por medio de la frase «específico para PD-1» para una terapia que implica una molécula que interactúa directamente con PD-1 o «específico para PD-L1» para una molécula que interactúa directamente con PD-L1, según corresponda. A menos que se designe de otro modo, toda la descripción incluida en la presente con respecto a la terapia con PD-1 aplica a la terapia con PD-1 generalmente, así como también terapias específicas para PD-1 y/o específicas para PD-L1. Las terapias con PD-1 de ejemplo no taxativas incluyen nivolumab (BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538); pidilizumab, lambrolizumab/pembrolizumab (KEYTRUDA®, MK-3475); durvalumab; RG-7446; MSB-0010718C; AMP-224; BMS-936559 (un anticuerpo anti-PD-L1); AMP-514; MDX-1105; ANB-011; anti-LAG-3/PD-1; anti-PD-1 Ab (CoStim); anti-PD-1 Ab (Kadmon Pharm.); anti-PD-1 Ab (Immunovo); anti-TIM-3/PD-1 Ab (AnaptysBio); anti-PD-L1 Ab (CoStim/Novartis); MEDI-4736 (un anticuerpo anti-PD-L1, Medimmune/AstraZeneca); RG7446/MPDL3280A (un anticuerpo anti-PD-L1, Genentech/Roche); KD-033, antagonista PD-1 (Agenus); STI-A1010; STI-A1110; TSR-042; y otros anticuerpos que se dirigen contra la muerte programada -1 (PD-1) o ligando 1 de muerte programada (PD-L1).

La administración «en combinación con» uno o más agentes terapéuticos adicionales incluye la administración simultánea (concurrente) y consecutiva o secuencial en cualquier orden.

Tal como se utiliza en la presente, «de forma concurrente» hace referencia a la administración de dos o más agentes terapéuticos, en cuyo caso al menos parte de la administración se superpone en el tiempo o la administración de un agente terapéutico queda comprendida en un período breve de tiempo respecto a la administración del otro agente terapéutico. Por ejemplo, los dos o más agentes terapéuticos se administran con una separación temporal de no más de alrededor de una cantidad específica de minutos.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión «de forma secuencial» hace referencia a la administración de dos o más agentes terapéuticos, en cuyo caso, la administración de uno o más agentes continúa luego de interrumpir la administración de uno o más de los otros agentes. Por ejemplo, la administración de los dos o más agentes terapéuticos se administran con una separación temporal de más de alrededor de una cantidad específica de minutos.

Tal como se utiliza en la presente, «en combinación con» hace referencia a la administración de una modalidad de tratamiento además de otra modalidad de tratamiento. En ese sentido, «en conjunción con» hace referencia a la administración de una modalidad de tratamiento antes, durante o después de la administración de la otra modalidad de tratamiento al individuo.

El término «prospecto» se utiliza para hacer referencia a las instrucciones que se acostumbra incluir en envases comerciales de productos terapéuticos, las que contienen información acerca de las indicaciones, uso, dosis, administración, terapia de combinación, contraindicaciones y/o advertencias respecto al uso de dichos productos terapéuticos.

Un «artículo de fabricación» es cualquier artículo (por ejemplo, un envase o recipiente) o kit que comprenda al menos un reactivo, por ejemplo, un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno (por ejemplo, cáncer) o una sonda para detectar de forma específica un biomarcador descrito en la presente. En algunas modalidades, a se promueve, se distribuye o se vende el producto o kit como una unidad para llevar a cabo los métodos descritos en la presente.

«Etiqueta» y «etiqueta detectable» indican un resto unido a un anticuerpo o su analito para hacer posible la detección de una reacción (por ejemplo, unión) entre los miembros del par de unión específica. Se hace referencia al miembro etiquetado del par de unión específica como «detectablemente etiquetado». Por lo tanto, «proteína de unión etiquetada» hace referencia a una proteína con una etiqueta incorporada que hace posible la identificación de la proteína de unión. En algunas modalidades, la etiqueta es un marcador detectable que puede producir una señal que se puede detectar mediante medios visuales o instrumentales, por ejemplo, la incorporación de un adjunto o aminoácido radiomarcado a un polipéptido de restos biotinilados que se puede detectar mediante el marcador avidina (por ejemplo, estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o actividad enzimática que se puede detectar mediante métodos ópticos o colorimétricos). Los ejemplos de etiquetas para polipéptidos

incluyen, de modo no taxativo, los siguientes: radioisótopos o radionúclidos (por ejemplo, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I , ^{177}Lu , ^{166}Ho o ^{153}Sm); cromógenos, etiquetas fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fósforos a base de lantánido), etiquetas enzimáticas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, luciferasa, fosfatasa alcalina); marcadores quimioluminiscentes; grupos biotinilados; epítopos de polipéptidos predeterminados reconocidos por un informante secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremallera de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítopos); y agentes magnéticos, tales como quelatos de gadolinio. Los ejemplos representativos de etiquetas de uso habitual en inmunoensayos incluyen los restos que producen luz, por ejemplo, compuestos de acridinio, y restos que producen fluorescencia, por ejemplo, fluoresceína.

Con respecto a esto, el propio resto puede no etiquetarse de forma detectable, pero puede volverse detectable tras la reacción con incluso otro resto.

El término «conjugado» hace referencia a un anticuerpo químicamente enlazado a un segundo resto químico, tal como un agente terapéutico o citotóxico. El término «agente» incluye un compuesto químico, una mezcla de compuestos químicos, una macromolécula biológica o un extracto producido a partir de materiales biológicos. En algunas modalidades, los agentes terapéuticos o citotóxicos incluyen, de modo no taxativo, toxina pertúsica, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxiانترacina, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puromicina, y análogos u homólogos de estos. Cuando se usa en el contexto de un inmunoensayo, el anticuerpo de conjugado puede ser un anticuerpo etiquetado de forma detectable usado como el anticuerpo de detección.

II. Anticuerpos anti-LILRB2

Se proporcionan anticuerpos nuevos dirigidos contra LILRB2. Los anticuerpos anti-LILRB2 incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos de ratón, anticuerpos humanos y anticuerpos que comprenden las CDR de cadena pesada y/o cadena ligera que se tratan en la presente. En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo aislado que se une a LILRB2. En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo monoclonal que se une a LILRB2.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 96; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 97; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 98; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 106; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 110.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 115; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 116; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 117; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 118; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 120.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 que se describe en la presente. En algunas modalidades, se puede producir y/o utilizar un anticuerpo que compite por la unión (es decir, presenta competencia cruzada) con cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia

de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 96; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 97.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 98; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 106; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 110.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 115; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 116; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 117.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 118; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 120.

En algunas modalidades, es posible combinar cualquiera de las seis CDR provistas en la presente como subpartes con cualquiera de las otras CDR provistas en la presente para un total de seis CDR en una construcción. Por lo tanto, en algunas modalidades, se pueden combinar dos CDR de un primer anticuerpo (por ejemplo, CDR- H1 y CDR- H2) con cuatro CDR de un segundo anticuerpo (CDR- H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3). En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en una o más de las CDR para obtener una variante de esta. En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 13. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 13, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 14. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 14, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. En algunas modalidades, una

secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 13. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 14. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 13 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 14, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 13 y la SEQ ID NO: 14, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 11 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 53. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 53, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo
5 comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de
10 referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 54. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 54, inclusive modificaciones postraduccionales
15 de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H
20 que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 54. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98
25 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de
30 unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 53. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 54. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 53 y una secuencia

de dominio V_L de la SEQ ID NO: 54, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 53 y la SEQ ID NO: 54, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 51 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 52.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 63. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 63, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-

LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 64, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 63. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 63 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 64, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 63 y la SEQ ID NO: 64, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 73.

En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 73. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 73, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 74. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 74, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 73 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 74. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al

menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 73. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 74. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 73 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 74, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 73 y la SEQ ID NO: 74, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 71 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 72.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 83, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94

%, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84. En algunas modalidades, una secuencia VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 84. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia VL de la SEQ ID NO: 84, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la VL comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83 y una VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de VH que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio VL que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 83. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 84. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio VH en la SEQ ID NO: 83 y una secuencia de dominio VL de la SEQ ID NO: 84, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio VH como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio VL como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo

comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 83 y la SEQ ID NO: 84, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 81 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 93. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 93, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 96; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 97.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 94. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 94, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 98; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 93 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 94. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 93. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 94. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 93 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 94, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 93 y la SEQ ID NO: 94, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 91 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 92.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 103. En algunas

modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 103, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 105; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 106; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 104. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 104, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 109; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 110.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 103 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 103. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un

total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 104. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 103 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 104, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 103 y la SEQ ID NO: 104, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 113. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 113. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 113, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 115; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 116; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 117.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 114. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de

unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 114. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 114, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 118; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 120.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 113 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 114. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 113. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 114. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 113 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 114, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 113 y la SEQ ID NO: 114, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 111 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 112.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 que se describe en la presente. En algunas modalidades, se puede producir y/o utilizar un anticuerpo que compite por la unión (es decir, presenta competencia cruzada) con cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

En algunas modalidades, es posible combinar cualquiera de las seis CDR provistas en la presente como subpartes con cualquiera de las otras CDR provistas en la presente para un total de seis CDR en una construcción. Por lo tanto, en algunas modalidades, se pueden combinar dos CDR de un primer anticuerpo (por ejemplo, CDR- H1 y CDR- H2) con cuatro CDR de un segundo anticuerpo (CDR- H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3). En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en una o más de las CDR para obtener una variante de esta. En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3.

En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 3. En algunas

modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 3, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 4, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 3. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un

total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 4. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 3 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 4, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas

5 secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 3 y la SEQ ID NO: 4, respectivamente,

10 inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR seleccionadas de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ

15 ID NO: 30.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 que se describe en la presente. En algunas modalidades, se puede producir y/o utilizar un anticuerpo que compite por la unión (es decir, presenta competencia cruzada) con cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27.

25

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

30

En algunas modalidades, es posible combinar cualquiera de las seis CDR provistas en la presente como subpartes con cualquiera de las otras CDR provistas en la presente para un total de seis

CDR en una construcción. Por lo tanto, en algunas modalidades, se pueden combinar dos CDR de un primer anticuerpo (por ejemplo, CDR- H1 y CDR- H2) con cuatro CDR de un segundo anticuerpo (CDR- H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3). En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en una o más de las CDR para obtener una variante de esta. En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 23. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 23, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 24, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 28; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 30.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 23. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 24. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 23 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 24, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 23 y la SEQ ID NO: 24, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 22.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 que se describe en la presente. En algunas modalidades, se puede producir y/o utilizar un anticuerpo que compite por la unión (es decir, presenta competencia cruzada) con cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37.

10 En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.

15 En algunas modalidades, es posible combinar cualquiera de las seis CDR provistas en la presente como subpartes con cualquiera de las otras CDR provistas en la presente para un total de seis CDR en una construcción. Por lo tanto, en algunas modalidades, se pueden combinar dos CDR de un primer anticuerpo (por ejemplo, CDR- H1 y CDR- H2) con cuatro CDR de un segundo anticuerpo (CDR- H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3). En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en una o más de las CDR para obtener una variante de esta. En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR.

20 En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras),
 25 inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 33. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID
 30 NO: 33, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 35; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 36; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 37.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 34. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 34, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 38; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 39; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 40.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 33 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 34. En algunas modalidades, una secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 33. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 34. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 33 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 34, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 33 y la SEQ ID NO: 34, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 32.

En algunos aspectos, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46; (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 47; (d) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48; (e) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 49; y (f) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 que se describe en la presente. En algunas modalidades, se puede producir y/o utilizar un anticuerpo que compite por la unión (es decir, presenta competencia cruzada) con cualquiera de los anticuerpos proporcionados en la presente.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena pesada que se seleccionan de (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 47.

En algunos aspectos, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una, al menos dos o las tres secuencias CDR de cadena ligera que se seleccionan de (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 49; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50.

En algunas modalidades, es posible combinar cualquiera de las seis CDR provistas en la presente como subpartes con cualquiera de las otras CDR provistas en la presente para un total de seis CDR en una construcción. Por lo tanto, en algunas modalidades, se pueden combinar dos CDR de un primer anticuerpo (por ejemplo, CDR- H1 y CDR- H2) con cuatro CDR de un segundo anticuerpo (CDR- H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3). En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en una o más de las CDR para obtener una variante de esta. En algunas modalidades, se pueden reemplazar dos residuos o menos en 1, 2, 3, 4, 5 o 6 de las CDR.

En modalidades particulares, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio de cadena pesada variable (V_H) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43. En algunas modalidades, una secuencia V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 43. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_H de la SEQ ID NO: 43, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_H comprende: (a) CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45; (b) CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 46; y (c) CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 47.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2, donde el anticuerpo comprende un dominio de cadena ligera variable (V_L) que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44. En algunas modalidades, una secuencia V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 44. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia V_L de la SEQ ID NO: 44, inclusive modificaciones postraduccionales de esa secuencia.

En algunas modalidades, la V_L comprende: (a) CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48; (b) CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 49; y (c) CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 50.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de dominio V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43 y una V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44. En algunas modalidades, una

secuencia de dominio de V_H que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, y una secuencia de dominio V_L que tiene al menos 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad contiene sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras), inserciones o eliminaciones con respecto a la secuencia de referencia, pero un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a LILRB2. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 43. En algunas modalidades, se sustituyó, se insertó y/o se eliminó un total de 1 a 10 aminoácidos en la SEQ ID NO: 44. En algunas modalidades, se producen sustituciones, inserciones o eliminaciones en regiones fuera de las CDR (es decir, en la FR). Opcionalmente, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende la secuencia de dominio V_H en la SEQ ID NO: 43 y una secuencia de dominio V_L de la SEQ ID NO: 44, que incluye modificaciones postraduccionales de una o ambas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende un dominio V_H como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente y un dominio V_L como en cualquiera de las modalidades que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende las secuencias de dominio V_H y V_L de la SEQ ID NO: 43 y la SEQ ID NO: 44, respectivamente, inclusive modificaciones postraduccionales de esas secuencias.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende las seis CDR como se describe en cualquiera de las modalidades anteriores y se une específicamente a LILRB2 (por ejemplo, LILRB2 humano). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende las seis CDR de cualquiera de las modalidades que se describen anteriormente, se une específicamente a LILRB2 y bloquea la unión de HLA-G y/o HLA-A2 a LILRB2 (por ejemplo, LILRB2 humano). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 comprende las seis CDR como se describe en cualquiera de las modalidades anteriores, se une específicamente a LILRB2 (por ejemplo, LILRB2 humano) y provoca la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una región de cadena pesada variable y una región de cadena ligera variable. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos una cadena pesada que comprende una región de cadena pesada variable y al menos una parte de una región constante de cadena pesada y al menos una cadena ligera que comprende una región de cadena ligera variable y al menos una parte de una región constante de

cadena ligera. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 comprende al menos dos cadenas pesadas, donde cada cadena pesada comprende una región de cadena pesada variable y al menos una parte de una región constante de cadena pesada y dos cadenas ligeras, donde cada cadena ligera comprende una región de cadena ligera variable y al menos una parte de una región constante de cadena ligera. Tal como se usa en la presente, un Fv de cadena simple (scFv), o cualquier otro anticuerpo que comprende, por ejemplo, una única cadena de polipéptidos que comprende las seis CDR (tres CDR de cadena pesada y tres CDR de cadena ligera) se considera que tiene una cadena pesada y una cadena ligera. En algunas modalidades, la cadena pesada es la región del anticuerpo anti-LILRB2 que comprende las tres CDR de cadena pesada. En algunas modalidades, la cadena ligera es la región del anticuerpo anti-LILRB2 que comprende las tres CDR de cadena ligera.

En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos que compiten con los anticuerpos anti-LILRB2 proporcionados en la presente por la unión a LILRB2. En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos que presentan competencia cruzada con los anticuerpos anti-LILRB2 proporcionados en la presente por la unión a un epítipo en el LILRB2.

En algunas modalidades, se pueden utilizar ensayos de competición para identificar un anticuerpo monoclonal que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 descrito en la presente por la unión a LILRB2. Se pueden utilizar los ensayos de competición para determinar si dos anticuerpos se unen al mismo epítipo al reconocer epítopos idénticos o estéricamente superpuestos o si un anticuerpo inhibe de forma competitiva la unión de otro anticuerpo al antígeno. En algunas modalidades, tal anticuerpo competitivo se une al mismo epítipo al que está unido un anticuerpo descrito en la presente. Los ejemplos de ensayos de competición incluyen, de modo taxativo, ensayos de rutina tal como los provistos en Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, capítulo 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.). Es posible encontrar ejemplos detallados de métodos para mapear un epítipo al cual se une un anticuerpo en Morris (1996) «Epitope Mapping Protocols», en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, N.J.). En algunas modalidades, se dice que dos anticuerpos se unen al mismo epítipo si cada uno bloquea la unión del otro en 50 % o más. En algunas modalidades, el anticuerpo que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 descrito en la presente es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo que compite con un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico, humanizado o humano, tal como se describe en la presente.

En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos que se unen a cualesquiera uno o más de los epítopos de los anticuerpos que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, se proveen anticuerpos que se unen y se superponen a un epítipo al que se unen los anticuerpos de la presente. En algunas modalidades, se provee un anticuerpo que compite con al menos uno de los anticuerpos provistos en la presente. En algunas modalidades, se provee un anticuerpo que compite con al menos

dos de los anticuerpos provistos en la presente. En algunas modalidades, se provee un anticuerpo que compite con al menos tres de los anticuerpos provistos en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo se une a un epítipo superpuesto como un anticuerpo descrito en los ejemplos de la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo competitivo se une al epítipo completo y/o lo obstruye. En algunas modalidades, el anticuerpo competitivo se une a una parte del epítipo y/o la obstruye. En algunas modalidades, el parátipo del anticuerpo competitivo se une a al menos una parte del epítipo de un anticuerpo provisto en la presente. En algunas modalidades, el parátipo del anticuerpo competitivo se une a la diana y una sección diferente de la estructura del anticuerpo competitivo obstruye al menos una parte del epítipo de un anticuerpo provisto en la presente.

Ejemplos de anticuerpos quiméricos

En algunas modalidades, un anticuerpo proporcionado en la presente es un anticuerpo quimérico. Se describen determinados anticuerpos quiméricos, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 4 816 567 y en Morrison et ál., 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 81:6851-6855. En un ejemplo, un anticuerpo quimérico comprende una región variable no humana (por ejemplo, una región variable derivada de un ratón, rata, hámster, conejo o primate no humano, tal como un mono) y una región constante humana. En un ejemplo adicional, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo «con conmutación de clase», donde la clase o subclase se cambió con respecto a la del anticuerpo original. Los anticuerpos quiméricos incluyen fragmentos de unión a antígeno de estos.

Los anticuerpos quiméricos de ejemplo no taxativos incluyen anticuerpos quiméricos que comprenden las regiones variables de cadena ligera/cadena pesada de cualquiera de los anticuerpos anti-LILRB2 que se describen en la presente. Los anticuerpos quiméricos de ejemplo no taxativos incluyen anticuerpos quiméricos que comprenden CDR-H1, CDR-H2, y CDR-H3, y/o una CDR-L1, CDR-L2, y CDR-L3 de cualquiera de los anticuerpos anti-LILRB2 que se describen en la presente. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 quimérico comprende las regiones variables que se describieron anteriormente y se une a LILRB2. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 quimérico comprende las regiones variables que se describieron anteriormente, se une a LILRB2 y provoca la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 y 113 donde el anticuerpo se une a LILRB2. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de región variable que

es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 y 114 donde el anticuerpo se une a LILRB2. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 3, 13, 23, 33, 43, 53, 63, 73, 83, 93, 103 y 113; y una cadena ligera que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 4, 14, 24, 34, 44, 54, 64, 74, 84, 94, 104 y 114; donde el anticuerpo se une a LILRB2.

Los ejemplos de anticuerpos anti-LILRB2 quiméricos también incluyen anticuerpos quiméricos que compiten por unirse a LILRB2 con un anticuerpo o fragmento de este que se describe en la presente. Por lo tanto, en algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico que compite por su unión a LILRB2 con cualquiera de los anticuerpos LILRB2 que se describen en la presente o fragmento de estos. En algunas modalidades, el anticuerpo compite por la unión a LILRB2 y provoca la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico que se describe en la presente comprende una o más regiones constantes humanas. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo que se selecciona de IgA, IgG y IgD. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo que se selecciona de κ y λ . En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico descrito en la presente comprende una región constante de IgG humana. En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico descrito en la presente comprende una región constante de cadena pesada de IgG4 humana. En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico que se describe en la presente comprende una región constante de IgG4 humana y una cadena ligera κ humana.

Tal como se indicó anteriormente, la presencia o no de una función efectora puede depender del método de tratamiento particular previsto para un anticuerpo. Por lo tanto, en algunas modalidades, cuando se desea la función efectora, se selecciona un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico que comprende una región constante de cadena pesada IgG1 humana o una región constante de cadena pesada IgG3 humana. En algunas modalidades, cuando no se desea la función efectora, se selecciona un anticuerpo anti-LILRB2 quimérico que comprende una región constante de cadena pesada IgG2 o IgG4 humana.

Anticuerpos humanizados de ejemplo

En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos humanizados que se unen a LILRB2. Los anticuerpos humanizados son útiles como moléculas terapéuticas porque los anticuerpos humanizados reducen o eliminan la respuesta inmunitaria humana en comparación con los anticuerpos no humanos, lo cual puede generar una respuesta inmunitaria a un agente terapéutico del anticuerpo (tal como la respuesta al anticuerpo antirratón humano (HAMA)) y reducción de la eficacia del agente terapéutico.

En algunas modalidades, un anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado. Normalmente, un anticuerpo no humano se humaniza para reducir la inmunogenicidad en humanos, al tiempo que se mantiene la especificidad y la afinidad del anticuerpo no humano original. Generalmente, un anticuerpo humanizado comprende uno o más dominios variables en los que las CDR (o partes de estas) derivan de un anticuerpo no humano y las FR (o partes de estas) derivan de secuencias de anticuerpo humano. Un anticuerpo humanizado comprende también, opcionalmente, al menos una parte de una región constante humana. En algunas modalidades, se sustituyen algunos residuos de FR en un anticuerpo humanizado con residuos correspondientes de un anticuerpo no humano (por ejemplo, el anticuerpo del que derivan los residuos de CDR), por ejemplo, para restaurar o mejorar la especificidad o afinidad de anticuerpo.

Los anticuerpos humanizados y los métodos para elaborarlos se resumen en, por ejemplo, Almagro y Fransson, 2008, *Front. Biosci.*, 13: 1619-1633, y se describen adicionalmente, por ejemplo, en Riechmann et ál., 1988, *Nature*, 332:323-329; Queen et ál., 1989, *Proc. Natl Acad. Sci. EUA*, 86: 10029-10033; patentes estadounidenses n.º 5, 821,337, 7,527,791, 6,982,321 y 7,087,409; Kashmiri et ál., 2005, *Methods*, 36:25-34; Padlan, 1991, *Mol. Immunol.*, 28:489-498 (que describe la «recomposición de superficie»); Dall'Acqua et ál., 2005, *Methods*, 36:43-60 (que describe «transposición de FR»); y Osbourn et ál., 2005, *Methods*, 36:61-68 y Klimka et ál., 2000, *Br. J. Cancer*, 83:252-260 (que describe el enfoque de «selección guiada» para transposición de FR).

Las regiones marco humanas que pueden ser utilizadas para humanización incluyen, de modo no taxativo: regiones marco que se seleccionan con el método de «mejor ajuste» (véase, por ejemplo, Sims et ál., 1993 *J. Immunol.* 151: 2296)); regiones marco derivadas de la secuencia de consenso de anticuerpos humanos de un subgrupo particular de regiones variables de cadena ligera o pesada (véase, por ejemplo, Carter et ál., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 89:4285; y Presta et ál., 1993, *J. Immunol.*, 151:2623); regiones marco maduras humanas (mutadas somáticamente) o regiones marco de línea germinal humana (véase, por ejemplo, Almagro y Fransson, 2008, *Front. Biosci.*, 13:1619-1633); y regiones marco derivadas del análisis de bibliotecas de FR (véase, por ejemplo, Baca et ál., 1997, *J. Biol. Chem.*, 272: 10678-10684 y Rosok et ál., 1996, *J. Biol. Chem.*, 271 :22611-22618).

Los anticuerpos humanizados de ejemplo no taxativos incluyen los anticuerpos que comprenden un dominio V_H que se selecciona de las SEQ ID NO: 53, 63, 73, 83, 93, 103 y 113 y/o un dominio V_L que se selecciona de las SEQ ID NO: 54, 64, 74, 84, 94, 104 y 114, o cualquiera de uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR de estas. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende las CDR que se describieron anteriormente y se une a LILRB2. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende las CDR que se describieron anteriormente, se une a LILRB2 y provoca la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 53, 63, 73, 83, 93, 103 y 113 y donde el anticuerpo se une a LILRB2. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 54, 64, 74, 84, 94, 104 y 114, donde el anticuerpo se une a LILRB2. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 53, 63, 73, 83, 93 y 113; y una cadena ligera que comprende una secuencia de región variable que es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 54, 64, 74, 84, 94, 104 y 114, donde el anticuerpo se une a LILRB2.

En algunas modalidades, se mantiene cualquiera de una o más secuencias de CDR proporcionadas en la presente, mientras que la región de cadena ligera y/o pesada restante (es decir, FR1, FR2, FR3 y FR4) es al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idéntica a una secuencia que se selecciona de las SEQ ID NO: 53, 54, 63, 64, 73, 74, 83, 84, 93, 94, 103, 104, 113 y 114.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende al menos una de las CDR que se tratan en la presente. Es decir, en algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende al menos una CDR que se selecciona de una CDR-H1 que se trata en la presente, una CDR-H2 que se trata en la presente, una CDR-H3 que se trata en la presente, una CDR-

L1 que se trata en la presente, una CDR-L2 que se trata en la presente y una CDR-L3 que se trata en la presente. Además, en algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado comprende al menos una CDR mutada basada en una CDR que se trata en la presente, donde la CDR mutada comprende 1, 2, 3 o 4 sustituciones de aminoácidos con respecto a la CDR que se trata en la presente.

5 En algunas modalidades, una o más de las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. Un experto en la técnica puede seleccionar una o más sustituciones conservadoras de aminoácidos para una secuencia CDR particular, donde las sustituciones conservadoras de aminoácidos adecuadas no se pronostican que alteren de forma considerable las propiedades de unión del anticuerpo que comprende la CDR mutada.

10 Los ejemplos de anticuerpos anti-LILRB2 humanizados también incluyen anticuerpos que compiten por la unión a LILRB2 con un anticuerpo o fragmento de este que se describe en la presente. En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 humanizado que compite por la unión a LILRB2 con cualquier anticuerpo LILRB2 descrito en la presente, o fragmento de este, y provoca la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

15

Ejemplos de anticuerpos humanos

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 proporcionado en la presente es un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos pueden producirse mediante diversos métodos que se conocen en la técnica. En términos generales, se describen anticuerpos humanos en van Dijk y van de Winkel, 2001, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 5:368-374 y Lonberg, 2008, *Curr. Opin. Immunol.*, 20:450-459.

20 En algunas modalidades, el anticuerpo humano no es un anticuerpo de origen natural. En algunas modalidades, el anticuerpo humano es un anticuerpo monoclonal, por lo tanto, en algunas modalidades, cada uno de los anticuerpos humanos en un conjunto se puede unir al mismo epítipo en el antígeno.

Los anticuerpos humanos se pueden preparar mediante la administración de un inmunógeno a un animal transgénico que se ha modificado para producir anticuerpos intactos humanos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta a una exposición de antígenos. Tales animales contienen normalmente la totalidad o parte de los locus de inmunoglobulina humana, los cuales reemplazan los locus de inmunoglobulina endógena o están presentes de forma extracromosómica o integrados aleatoriamente a los cromosomas del animal. En dichos ratones transgénicos, generalmente

25 se inactivaron los locus de inmunoglobulina endógena. Para la revisión de los métodos para obtener anticuerpos humanos de animales transgénicos, véase Lonberg, 2005, *Nat. Biotech.*, 23: 1117-1125. Véase también, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 6,075,181 y 6,150,584 que describen tecnología XENOMOUSE™, la patente estadounidense n.º 5,770,429 que describe tecnología HUMAB®, la patente estadounidense n.º 7,041,870 que describe tecnología K-M MOUSE® y la

30

publicación de solicitud de patente estadounidense n.º US 2007/0061900 que describe tecnología VELOCIMOUSE®). Las regiones variables humanas de anticuerpos intactos generados por estos animales se pueden modificar de forma adicional mediante, por ejemplo, la combinación con una región constante humana diferente.

- 5 Los anticuerpos humanos también se pueden producir mediante métodos basados en hibridoma. Se han descrito las líneas celulares de mieloma humano y de heteromieloma humano-ratón para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. Véase, por ejemplo, Kozbor, 1984, *J. Immunol.*, 133: 3001; Brodeur et ál., *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, págs. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987); y Boerner et ál., 1991, *J. Immunol.*, 147:86). También se describen anticuerpos humanos generados mediante tecnología de hibridoma de linfocitos B humanos en Li et ál., 10 2006, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 103:3557-3562. Otros métodos incluyen los descritos, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 7,189,826 (que describe la producción de anticuerpos IgM humanos monoclonales de las líneas celulares de hibridoma) y Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268 (2006) (que describe hibridomas humano-humano). Se describe también la tecnología de hibridoma humano (tecnología Trioma) en Vollmers y Brandlein, 2005, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937 y 15 Vollmers y Brandlein, 2005, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3): 185-191.

- Los anticuerpos humanos también se pueden generar mediante el aislamiento de las secuencias de dominio variable del clon de Fv que se seleccionan de bibliotecas de expresión en fagos derivados 20 de humanos. Estas secuencias de dominio variable luego se pueden combinar con un dominio constante humano deseado. A continuación, se describen técnicas para seleccionar anticuerpos humanos a partir de bancos de anticuerpos.

- Los anticuerpos se pueden aislar mediante análisis de genotecas de combinación para determinar los anticuerpos con la o las actividades deseadas. Por ejemplo, en la técnica se conocen 25 diversos métodos para generar genotecas de expresión en fagos y analizar dichas genotecas para determinar anticuerpos con las características de unión deseadas. Se encuentra información sobre estos métodos, por ejemplo en Hoogenboom et ál. en *Methods in Molecular Biology* 178: 1-37 (O'Brien et ál., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001) y se describe, además, por ejemplo, en McCafferty et ál., 1990, *Nature* 348:552-554; Clackson et ál., 1991, *Nature*, 352: 624-628; Marks et ál., 1992, *J. Mol. Biol.*, 222: 30 581-597; Marks y Bradbury, en *Methods in Molecular Biology* 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et ál., 2004 *J. Mol. Biol.*, 338(2): 299-310; Lee et ál., 2004, *J. Mol. Biol.* 340(5): 1073-1093; Fellouse, 2004, *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 101(34): 12467-12472; y Lee et ál., 2004, *J. Immunol. Methods*, 284(1-2): 119-132 y la publicación PCT WO 99/10494.

En determinados métodos de expresión de fagos, se clonan repertorios de genes de V_H y V_L por separado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se recombinan de forma aleatoria en genotecas de fagos que luego pueden analizarse en busca de fagos de unión a antígenos, tal como se describe en Winter et ál., 1994, *Ann. Rev. Immunol.*, 12:433-455. Generalmente, los fagos expresan fragmentos de anticuerpos, como fragmentos Fv de cadena simple (scFv) o como fragmentos Fab. Los bancos de orígenes inmunizados le proporcionan al inmunógeno anticuerpos de gran afinidad sin el requisito de construcción de hibridomas. De manera alternativa, se puede clonar el repertorio sin tratamiento previo (por ejemplo, de humano) para proporcionar una única fuente de anticuerpos a una amplia variedad de no autoantígenos y también autoantígenos sin inmunización alguna, tal como se describe en Griffiths et ál., 1993, *EMBO J*, 12:725-734. Finalmente, las bibliotecas sin inmunización también se pueden elaborar de forma sintética clonando segmentos génicos V sin reorganización a partir de células madre, y utilizando cebadores PCR que contienen secuencias aleatorias para codificar las regiones CDR3 altamente variables y para lograr la reorganización in vitro, tal como se describe en Hoogenboom y Winter 1992, *J. Mol. Biol.*, 227:381-388. Las publicaciones de patente que describen bancos de fagos de anticuerpos humanos incluyen, por ejemplo: la patente estadounidense n.º 5,750,373, y las publicaciones de patentes estadounidenses n.º 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936 y 2009/0002360.

En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 humano quimérico, donde el anticuerpo comprende la región variable de un anticuerpo humano que se une a LILRB2 y la región constante de un anticuerpo humano diferente. En algunas modalidades, se proporciona un anticuerpo anti-LILRB2 humano quimérico, donde el anticuerpo comprende las CDR de un anticuerpo humano que se une a LILRB2 y un marco de un anticuerpo humano diferente. En algunas modalidades, el anticuerpo no es un anticuerpo humano de origen natural.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 humano comprende una o más regiones constantes humanas. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo que se selecciona de IgA, IgG y IgD. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo que se selecciona de κ y λ . En algunas modalidades, un anticuerpo humano descrito en la presente comprende una región constante de IgG humana. En algunas modalidades, un anticuerpo humano descrito en la presente comprende una región constante de cadena pesada de IgG4 humana. En algunas modalidades, un anticuerpo humano descrito en la presente comprende una región constante IgG4 humana y una cadena ligera κ humana.

En algunas modalidades, cuando se desea la función efectora, se selecciona un anticuerpo anti-LILRB2 humano que comprende una región constante de cadena pesada de IgG1 humana o una región constante de cadena pesada de IgG3 humana. En algunas modalidades, cuando no se desea la función

efectora, se selecciona un anticuerpo anti-LILRB2 humano que comprende una región constante de cadena pesada IgG2 o IgG4 humana.

Tal como se observó en la presente, la expresión «anticuerpo humano» indica el género de secuencias posibles para la construcción de anticuerpo en lugar de una fuente del anticuerpo.

5

Regiones constantes de anticuerpos de ejemplo

En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una o más regiones constantes humanas. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo que se selecciona de IgA, IgG y IgD. En algunas modalidades, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo que se selecciona de κ y λ . En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de IgG humana. En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de cadena pesada IgG4 humana. En algunas modalidades, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de IgG4 humana y una cadena ligera κ humana.

En la memoria descriptiva y las reivindicaciones de la presente, salvo que se establezca explícitamente o sea de conocimiento de un experto en la técnica, la numeración de los residuos en una cadena pesada de inmunoglobulina es la del índice EU, tal como en Kabat et ál., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5.^a ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, MD. (1991), incorporado expresamente a la presente mediante esta referencia. El “índice EU de acuerdo con Kabat” hace referencia a la enumeración de residuos del anticuerpo EU de IgG1 humana.

Tal como se indicó anteriormente, la presencia o no de una función efectora puede depender del método de tratamiento particular previsto para un anticuerpo. Por lo tanto, en algunas modalidades, cuando se desea la función efectora, se selecciona un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende una región constante de cadena pesada IgG1 humana o una región constante de cadena pesada IgG3 humana. En algunas modalidades, cuando no se desea la función efectora, se selecciona un anticuerpo anti-LILRB2 que comprende una región constante de cadena pesada de IgG2 o IgG4 humana.

En algunas modalidades, un anticuerpo comprende una región Fc variante que presenta al menos una sustitución de aminoácidos en comparación con la región Fc de una IgG de tipo salvaje o un anticuerpo de tipo salvaje. En algunas modalidades, la región Fc variante presenta dos o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc del anticuerpo de tipo salvaje. En algunas modalidades, la región Fc variante presenta tres o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc del anticuerpo de tipo salvaje. En algunas modalidades, la región Fc variante presenta al menos una, dos o tres o más sustituciones de aminoácidos de región Fc descritas en la presente. En algunas modalidades, la región Fc variante en la presente tendrá al menos alrededor de 80 % de homología con una región Fc de

secuencia natural y/o con una región Fc de un polipéptido original. En algunas modalidades, la región Fc variante en la presente tendrá al menos alrededor de 90 % de homología con una región Fc de secuencia natural y/o con una región Fc de un polipéptido original. En algunas modalidades, la región Fc variante en la presente tendrá al menos alrededor de 95 % de homología con una región Fc de secuencia natural y/o con una región Fc de un polipéptido original.

En algunas modalidades, se altera un anticuerpo proporcionado en la presente para aumentar o reducir la medida en que se glicosila el anticuerpo. Es posible lograr la adición o eliminación de sitios de glicosilación a un anticuerpo en forma conveniente mediante la alteración de la secuencia de aminoácidos, de modo que se creen o se eliminen uno o más sitios de glicosilación.

En los casos en los que el anticuerpo comprende una región Fc, el carbohidrato unido a este puede modificarse. Los anticuerpos naturales producidos por células de mamíferos comúnmente comprenden un oligosacárido ramificado y de doble antena que se une generalmente por un enlace N a Asn297 del dominio CH2 de la región Fc. Véase, por ejemplo, Wright et ál., 1997, *TIBTECH*, 15:26-32. El oligosacárido puede incluir varios carbohidratos, por ejemplo, manosa, N-acetilglucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, así como también una fucosa unida a una GlcNAc en el “tallo” de la estructura del oligosacárido de dos antenas. En algunas modalidades, las modificaciones del oligosacárido en un anticuerpo se pueden generar para crear variantes de anticuerpos con ciertas propiedades mejoradas.

En algunas modalidades, se proporcionan variantes de anticuerpo que tienen una estructura de carbohidrato que carece de fucosa unida (directa o indirectamente) a una región Fc. Por ejemplo, la cantidad de fucosa en dicho anticuerpo puede ser de 1 % a 80 %, de 1 % a 65 %, de 5 % a 65 % o de 20 % a 40 %. La cantidad de fucosa se determina calculando la cantidad promedio de fucosa dentro de la cadena de azúcar en Asn297, en comparación con la suma de todas las glicoestructuras unidas a Asn 297 (por ejemplo, estructuras complejas, híbridas y de manosa elevada) tal como se mide mediante espectrómetro de masas MALDI-TOF, tal como se describe en, por ejemplo, WO 2008/077546. Asn297 hace referencia al residuo asparagina ubicado alrededor de la posición 297 en la región Fc (numeración EU de residuos de la región Fc). Sin embargo, Asn297 también se puede ubicar alrededor de ± 3 aminoácidos anterior o posteriormente a la posición 297, es decir, entre las posiciones 294 y 300, debido a pequeñas variaciones de secuencia en los anticuerpos. Tales variantes de fucosilación pueden tener una función de ADCC mejorada. Véase, por ejemplo, las publicaciones de patente estadounidenses n.º U.S. 2003/0157108 (Presta, L.); U.S. 2004/0093621 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd). Los ejemplos de publicaciones relacionadas con variantes de anticuerpos «desfucosiladas» o «con deficiencia de fucosa» incluyen: U.S. 2003/0157108; WO 2000/61739; WO 2001/29246; U.S. 2003/0115614; U.S. 2002/0164328; U.S. 2004/0093621; U.S. 2004/0132140; U.S. 2004/0110704; U.S. 2004/0110282; U.S. 2004/0109865; WO 2003/085119; WO 2003/084570; WO 2005/035586; WO 2005/035778;

WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki *et ál.* *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki *et ál.*, 2004, *Biotech. Bioeng.* 87: 614. Los ejemplos de líneas celulares que pueden producir anticuerpos defucosilados incluyen células CHO Lec13 con deficiencia en fucosilación proteica (Ripka *et ál.*, 1986, *Arch. Biochem. Biophys.* 249: 533-545; solicitud de patentes estadounidense n.º U.S. 2003/0157108 A1 (Presta, L); y WO 2004/056312 A1, (Adams *et ál.*, especialmente en el Ejemplo 11), y líneas celulares con inactivación, tal como el gen alfa-1,6-fucosiltransferasa, FUT8, células CHO inactivadas (véase, por ejemplo, Yamane-Ohnuki *et ál.*, 2004, *Biotech. Bioeng.* 87: 614; Kanda, Y. *et ál.*, 2006, *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688; y WO 2003/085107).

Además, se proporcionan variantes de anticuerpo con oligosacáridos bisecados, por ejemplo, en los que se biseca un oligosacárido bicatenario unido a la región Fc del anticuerpo con GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener menor fucosilación y/o mejor función de ADCC. Los ejemplos de dichas variantes de anticuerpos se describen, por ejemplo, en WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et ál.*); patente estadounidense n.º 6,602,684 (Umana *et ál.*); y U.S. 2005/0123546 (Umana *et ál.*). También se proporcionan variantes de anticuerpos con al menos un residuo de galactosa en el oligosacárido unido a la región Fc. Tales variantes de anticuerpos pueden tener una función de CDC mejorada. Dichas variantes de anticuerpos se describen en, por ejemplo, WO 1997/30087 (Patel *et ál.*); WO 1998/58964 (Raju, S.); y WO 1999/22764 (Raju, S.).

También se proporcionan variantes de anticuerpo con extensiones líderes en el extremo amino. Por ejemplo, uno o más residuos aminoacídicos de la secuencia líder del extremo amino están presentes en el extremo amino de cualquier cadena o cadenas pesadas o ligeras de un anticuerpo. Un ejemplo de extensión líder de extremo amino comprende o consiste en tres residuos de aminoácidos, VHS, presentes en una o las dos cadenas ligeras de una variante de anticuerpo.

Se pueden analizar la semivida in vivo o en suero de polipéptidos con unión de afinidad elevada al FcRn humano, por ejemplo, en ratones transgénicos, en humanos o en primates no humanos, a los que se administran los polipéptidos que tienen una región Fc variante. Véase también, por ejemplo, Petkova *et ál.*, 2006, *International Immunology* 18(12):1759-1769.

En algunas modalidades, la variante de anticuerpo media la ADCC en presencia de células efectoras humanas de forma más eficaz que un anticuerpo original. En algunas modalidades, la variante de anticuerpo es sustancialmente más eficaz en la mediación de ADCC in vitro cuando las cantidades de variante de polipéptido y anticuerpo original utilizadas en el ensayo son básicamente las mismas. En algunas modalidades, la variante de anticuerpo es sustancialmente más eficaz en la mediación de ADCC in vivo cuando las cantidades de variante de polipéptido y anticuerpo original utilizadas en el ensayo son básicamente las mismas. En general, se identificarán dichas variantes con el ensayo de ADCC in vitro,

tal como se describió en la presente, pero se contemplan otros ensayos o métodos para determinar la actividad de ADCC, por ejemplo, en un modelo animal, etc.

Conjugados de anticuerpos de ejemplo

5 En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 se conjuga con otra molécula. En algunas modalidades, la molécula adicional puede ser un marcador detectable, tal como una etiqueta. En algunas modalidades, la molécula adicional puede ser una molécula terapéutica, tal como un agente citotóxico. En algunas modalidades, se puede conjugar una etiqueta y/o un agente citotóxico con el anticuerpo. Tal como se usa en la presente, una etiqueta es un resto que facilita la detección del anticuerpo y/o facilitar la detección de una molécula a la que se une el anticuerpo. Los ejemplos no taxativos de etiquetas incluyen, de modo no taxativo, radioisótopos, grupos fluorescentes, grupos enzimáticos, grupos quimioluminiscentes, biotina, etiquetas de epítomos, etiquetas de unión a metales, etc. Un experto en la técnica puede seleccionar una etiqueta adecuada de acuerdo con la aplicación específica.

15 Tal como se usa en la presente, una sustancia citotóxica es un resto que reduce la capacidad proliferativa de una o más células. Una célula tiene capacidad proliferativa reducida cuando la célula se vuelve menos apta para proliferar, por ejemplo, debido a que la célula se somete a apoptosis o muere de otra manera, la célula no logra continuar el ciclo celular y/o no logra dividirse, la célula se diferencia, etc. Los ejemplos no taxativos de sustancias citotóxicas incluyen, de modo no taxativo, radioisótopos, toxinas y sustancias quimioterapéuticas. El experto en la técnica puede seleccionar una sustancia citotóxica adecuada de acuerdo con la aplicación pretendida. En algunas modalidades, el agente citotóxico es al menos uno de un antimetabolito, un agente alquilante, un antibiótico, un factor de crecimiento, una citocina, un agente antiangiogénico, un agente antimitótico, una antraciclina, toxina o un agente apoptótico.

25 En algunas modalidades, una etiqueta y/o agente citotóxico se conjuga con un anticuerpo mediante métodos químicos in vitro. Los ejemplos no taxativos de métodos químicos de conjugación son conocidos en la técnica e incluyen servicios, métodos y/o reactivos comercialmente disponibles, por ejemplo, en Thermo Scientific Life Science Research Products (anteriormente Pierce; Rockford, Ill.), Prozyme (Hayward, California), SACRI Antibody Services (Calgary, Canadá), AbD Serotec (Raleigh, N.C.), etc. En algunas modalidades, cuando una etiqueta y/o agente citotóxico es un polipéptido, la etiqueta y/o agente citotóxico se puede expresar desde el mismo vector de expresión con al menos una cadena de anticuerpos para producir un polipéptido que comprende la etiqueta y/o agente citotóxico fusionado a una cadena de anticuerpos. El experto en la técnica puede seleccionar un método adecuado para conjugar un marcador y/o sustancia citotóxica con un anticuerpo de acuerdo con la aplicación que se pretenda.

En algunas modalidades, la conjugación puede ser covalente. En algunas modalidades, la conjugación puede ser no covalente. En algunas modalidades, la conjugación puede ser a través de una interacción de unión específica, por ejemplo, mediante la unión de un anticuerpo secundario.

5 *Ejemplos de secuencias líderes*

A efectos de que algunas proteínas secretadas se expresen y se secreten en grandes cantidades, se puede desear una secuencia líder de una proteína heteróloga. En algunas modalidades, el uso de secuencias líder heterólogas puede ser beneficioso en cuanto a que un polipéptido maduro resultante puede permanecer inalterado al tiempo que la secuencia líder se remueve del ER durante el
10 proceso de secreción. La adición de una secuencia líder heteróloga puede ser útil para expresar y secretar algunas proteínas.

Se describen determinados ejemplos de secuencias de secuencia líder, por ejemplo, en la base de datos de secuencias líder en línea del Departamento de Bioquímica, Universidad Nacional de Singapur. Véase Choo et ál., 2005, *BMC Bioinformatics*, 6: 249; y n.º de publicación PCT WO
15 2006/081430.

III. Actividad del anticuerpo

En la presente se proporcionan anticuerpos anti-LILRB2 que proporcionan características funcionales específicas. En aspectos particulares de la invención, los anticuerpos anti-LILRB2
20 promueven la inmunogenicidad (por ejemplo, como se muestra mediante macrófagos similares a M1) para responder a una patología, por ejemplo, cáncer. De manera adicional o alternativa, los anticuerpos anti-LILRB2 de la invención pueden inhibir una respuesta inmunorreguladora (por ejemplo, inmunosupresora), por ejemplo, como se muestra por medio de los macrófagos similares a M2.

El bloqueo de HLA-A2 puede ser un modelo que interrumpe la unión entre moléculas de clase
25 I MHC clásicas y LILRB2. Por lo tanto, en algunas modalidades de la invención, los anticuerpos anti-LILRB2 bloquean la unión de HLA-G o HLA-A2 a LILRB2 (por ejemplo, LILRB2 humano). El bloqueo puede detectarse y/o cuantificarse mediante cualquier medio adecuado que se conozca en la técnica o se describa en la presente. Por ejemplo, el bloqueo de HLA-G o HLA-A2 puede detectarse y/o cuantificarse usando un ensayo de bloqueo de tetrámeros (por ejemplo, usando monocitos humanos),
30 como se describe, por ejemplo, en el Ejemplo 10.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que bloquea la unión de HLA-G a LILRB2 se une al mismo epítipo (es decir, parcial o completamente) de LILRB2 que HLA-G. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que bloquea la unión de HLA-G a LILRB2 se une a al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete, o al

menos ocho residuos del epítipo de LILRB2 unido mediante HLA-G. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 bloquea al menos 50 % (por ejemplo, desde 50-100 %, desde 55-95 %, desde 60-90 %, desde 65-85 %, o desde 70-80 %, por ejemplo, desde 50-60 %, desde 60-70 %, desde 70-80 %, desde 80-90 %, o desde 90-100 %, por ejemplo, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, o aproximadamente 100 %) de tetrámero HLA-G en un ensayo de unión de tetrámeros. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 bloquea el tetrámero de HLA-G en una EC_{50} inferior a 1,0 nM (por ejemplo, inferior a 0,9 nM, inferior a 0,8 nM, inferior a 0,7 nM, inferior a 0,6 nM, inferior a 0,5 nM, inferior a 0,4 nM, inferior a 0,3 nM, inferior a 0,2 nM, inferior a 0,15 nM, inferior a 0,14 nM, inferior a 0,13 nM, inferior a 0,12 nM, inferior a 0,11 nM, inferior a 0,1 nM, inferior a 0,09 nM, o inferior a 0,08 nM) en un ensayo de unión de tetrámeros.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que bloquea la unión de HLA-A2 a LILRB2 se une al mismo epítipo (es decir, parcial o completamente) de LILRB2 que HLA-A2. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que bloquea la unión de HLA-A2 a LILRB2 se une a al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, al menos seis, al menos siete o al menos ocho residuos del epítipo de LILRB2 unido mediante HLA-A2. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 bloquea al menos 50 % (por ejemplo, desde 50-100 %, desde 55-95 %, desde 60-90 %, desde 65-85 %, o desde 70-80 %, por ejemplo, desde 50-60 %, desde 60-70 %, desde 70-80 %, desde 80-90 %, o desde 90-100 %, por ejemplo, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, o aproximadamente 100 %) del tetrámero HLA-A2 en un ensayo de unión de tetrámeros. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 bloquea el tetrámero HLA-A2 en una EC_{50} inferior a 1,0 nM (por ejemplo, inferior a 0,9 nM, inferior a 0,8 nM, inferior a 0,7 nM, inferior a 0,6 nM, inferior a 0,5 nM, inferior a 0,4 nM, inferior a 0,3 nM, inferior a 0,2 nM, inferior a 0,15 nM, inferior a 0,14 nM, inferior a 0,13 nM, inferior a 0,12 nM, inferior a 0,11 nM, inferior a 0,1 nM, inferior a 0,09 nM, o inferior a 0,08 nM) en un ensayo de unión de tetrámeros.

En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 proporcionados en la presente son capaces de convertir una población de macrófagos similares a M2 en una población de macrófagos similares a M1. La conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 puede detectarse o cuantificarse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica o descrito en la presente, por ejemplo, un ensayo de macrófagos derivados de monocitos humanos como se describe en el Ejemplo 6 o un ensayo de histocultivo como se describe en el Ejemplo 13.

En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de una expresión aumentada de uno o más genes que se seleccionan del grupo que consiste en CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, IL6R e IL15, por ejemplo, un aumento de la expresión de al menos 1 % (por ejemplo, al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 1 vez, al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 30 veces, al menos 40 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces, o más) de cualquiera de uno o más genes que se seleccionan del grupo que consiste en CXCL9, CXCL11, IRF1, TAP1, IL6R e IL15.

En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de una expresión reducida de uno o más genes que se seleccionan del grupo que consiste en CCL2, PTPN22, KLRC3, IL10, IL18R1, G6PD, CD68 y BAT3, por ejemplo, una disminución de la expresión de al menos 1 % (por ejemplo, al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % o 100 %) de cualquiera de uno o más genes que se seleccionan del grupo que consiste en CCL2, PTPN22, KLRC3, IL10, IL18R1, G6PD, CD68 y BAT3.

En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de una expresión aumentada de una, dos o tres citocinas que se seleccionan del grupo que consiste en TNF α , IL-1 β , IL-6, CCL3, EGR2, TRAF1, IL1A, IRAK2, TNF α , IL7R, CCL2, IL8, CCL4, CXCL1, BCL2, EGR1, IL1RN, TNFSF15, DUSP4, ICAM1, TNFAIP3, TNFRSF9, CD83, TNFAIP6, CCL20, NFKB1, TNFRSF4, CXCL2, PTGS2, NFKBIA, NFKB2, CLEC4E, NFKBIZ, CCL5, CCL7, CLEC5A, CEBPB, TLR2, SRC, RELB, PLAUR, SOCS3, GBP1, CCL18, CSF1, CD40, NT5E, CCL23, CCL8, GBP5, ITGAX, C3, TNFSF15, ICAM5, DPP4, ZEB1, SPP1, IL23A, CD123 e IL6, por ejemplo, un aumento de la expresión de al menos 1 % (por ejemplo, al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 1 vez, al menos 1.5 veces, al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 30 veces, al menos 40 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces o más) de cualquiera de uno o más genes que se seleccionan del grupo que consiste en TNF α , IL-1 β , IL-6, CCL3, EGR2, TRAF1, IL1A, IRAK2, TNF, IL7R, CCL2, IL8, CCL4, CXCL1, BCL2, EGR1, IL1RN, TNFSF15, DUSP4, ICAM1, TNFAIP3, TNFRSF9, CD83, TNFAIP6, CCL20, NFKB1, TNFRSF4, CXCL2, PTGS2, NFKBIA, NFKB2, CLEC4E, NFKBIZ, CCL5, CCL7, CLEC5A, CEBPB, TLR2, SRC, RELB, PLAUR, SOCS3, GBP1, CCL18, CSF1, CD40, NT5E, CCL23, CCL8, GBP5,

ITGAX, C3, TNFSF15, ICAM5, DPP4, ZEB1, SPP1, IL23A, CD123 e IL6. En algunas modalidades, la conversión de un macrófago similar a M2 en un macrófago similar a M1 se indica por medio de una expresión reducida de IL-10, CCL2, TGFB2, CXCL13, IL21R, CD36, CR1, C1QB y TGFBI, por ejemplo, una disminución de la expresión de al menos 1 % (por ejemplo, al menos 2 %, al menos 3 %, al menos 4 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % o 100 %) de cualquiera de uno o más genes que se seleccionan del grupo que consiste en IL-10, CCL2, TGFB2, CXCL13, IL21R, CD36, CR1, C1QB y TGFBI.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se une al LILRB2 humano con una mayor afinidad que cualquiera de uno o más del LILRB1 humano, LILRB3 humano, LILRB4 humano, LILRB5 humano, LILRA1 humano, LILRA2 humano, LILRA3 humano, LILRA4 humano, LILRA5 humano, o LILRA6 humano. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 de la invención se une al LILRB2 humano con al menos 2 veces más de afinidad (por ejemplo, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 30 veces, al menos 40 veces, al menos 50 veces, al menos 100 veces o más) con respecto a una cualquiera de uno o más de LILRB1 humano, LILRB3 humano, LILRB4 humano, LILRB5 humano, LILRA1 humano, LILRA2 humano, LILRA3 humano, LILRA4 humano, LILRA5 humano o LILRA6 humano. En algunas modalidades, la unión del anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente a cualquiera de uno o más de LILRB1 humano, LILRB3 humano, LILRB4 humano, LILRB5 humano, LILRA1 humano, LILRA2 humano, LILRA3 humano, LILRA4 humano, LILRA5 humano, o LILRA6 humano no es detectable, por ejemplo, interferometría de biocapa (por ejemplo, inferior a 0,08 nm mediante OCTET®). En algunas modalidades, la K_D del anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente para cualquiera de uno o más de LILRB1, LILRB3 humano, LILRB4 humano, LILRB5 humano, LILRA1 humano, LILRA2 humano, LILRA3 humano, LILRA4 humano, LILRA5 humano o LILRA6 humano es superior a 10 nM (por ejemplo, superior a 15 nM, superior a 20 nM, superior a 25 nM, superior a 30 nM, superior a 35 nM, superior a 40 nM, superior a 45 nM, superior a 50 nM, superior a 60 nM, superior a 70 nM, superior a 80 nM, superior a 90 nM, superior a 100 nM, superior a 500 nM, superior a 1 μ M, superior a 10 μ M, o superior a 100 μ M).

IV. Expresión y producción de anticuerpos

Moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-LILRB2

En la presente se proporcionan moléculas de ácido nucleico que comprenden polinucleótidos que codifican una o más cadenas de un anticuerpo anti-LILRB2. En algunas modalidades, una molécula

de ácido nucleico comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una cadena ligera de un anticuerpo anti-LILRB2. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico comprende tanto un polinucleótido que codifica una cadena pesada como un polinucleótido que codifica una cadena ligera de un anticuerpo anti-LILRB2. En algunas modalidades, una primera molécula de ácido nucleico
 5 comprende un primer polinucleótido que codifica una cadena pesada y una segunda molécula de ácido nucleico comprende un segundo polinucleótido que codifica una cadena ligera.

En algunas modalidades, la cadena pesada y la cadena ligera se expresan a partir de una molécula de ácido nucleico, o de dos moléculas de ácido nucleico separadas, como dos polipéptidos separados. En algunas modalidades, tal como cuando un anticuerpo es un scFv, un solo polinucleótido
 10 codifica un solo polipéptido que comprende una cadena pesada y una cadena ligera unidas entre sí.

En algunas modalidades, un polinucleótido que codifica una cadena pesada o cadena ligera de un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de nucleótidos que codifica al menos una de las CDR que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, un polinucleótido que codifica una cadena pesada o cadena ligera de un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de nucleótidos
 15 que codifica al menos 3 de las CDR que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, un polinucleótido que codifica una cadena pesada o cadena ligera de un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de nucleótidos que codifica al menos 6 de las CDR que se proporcionan en la presente. En algunas modalidades, un polinucleótido que codifica una cadena pesada o una cadena ligera de un anticuerpo anti-LILRB2 comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia líder, que,
 20 al traducirse, se ubica en el extremo N de la cadena pesada o cadena ligera. Tal como se describió anteriormente, la secuencia líder puede ser la secuencia líder de cadena ligera o pesada natural, o puede ser otra secuencia líder heteróloga.

En algunas modalidades, el ácido nucleico es uno que codifica cualquiera de las secuencias de aminoácidos para los anticuerpos en la Tabla de secuencias en la presente. En algunas modalidades,
 25 el ácido nucleico es uno que es al menos 80 % idéntico a un ácido nucleico que codifica cualquiera de las secuencias de aminoácidos para los anticuerpos en la Tabla de secuencias en la presente, por ejemplo, al menos 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idénticas. En algunas modalidades, el ácido nucleico es uno que se hibrida a cualesquiera una o más de las secuencias de ácido nucleico provistas en la presente. En algunas de las modalidades, la hibridación tiene lugar en condiciones
 30 moderadas. En algunas modalidades, la hibridación tiene lugar en condiciones muy rigurosas, tales como: al menos alrededor de 6X SSC y SDS al 1 % a 65 °C, con un primer lavado durante 10 minutos a alrededor de 42°C con alrededor de 20 % (v/v) de formamida en 0,1X SSC, y con un lavado posterior con 0,2 X SSC y SDS al 0,1 % a 65 °C.

Las moléculas de ácido nucleico se pueden construir con técnicas de ADN recombinante convencionales en la técnica. En algunas modalidades, una molécula de ácido nucleico es un vector de expresión adecuado para su expresión en una célula hospedadora seleccionada.

5 Vectores

Se proporcionan vectores que comprenden polinucleótidos que codifican cadenas pesadas anti-LILRB2 y/o cadenas ligeras anti-LILRB2. Se proporcionan también vectores que comprenden polinucleótidos que codifican cadenas pesadas anti-LILRB2 y/o cadenas ligeras anti-LILRB2. Dichos vectores incluyen, de modo no taxativo, vectores de ADN, vectores de fagos, vectores virales, vectores retrovirales, etc. En algunas modalidades, un vector comprende una primera secuencia de polinucleótidos que codifica una cadena pesada y una segunda secuencia de polinucleótidos que codifica una cadena ligera. En algunas modalidades, la cadena pesada y la cadena ligera se expresan a partir del vector como dos polipéptidos separados. En algunas modalidades, la cadena pesada y la cadena ligera se expresan como parte de un único polipéptido, tal como, por ejemplo, cuando el anticuerpo es un scFv.

En algunas modalidades, un primer vector comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada y un segundo vector comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera. En algunas modalidades, el primer vector y el segundo vector se transfectan en células hospedadoras en cantidades similares (tal como cantidades molares similares o cantidades de masa similares). En algunas modalidades, una relación molar o de masa de entre 5:1 y 1:5 del primer vector y del segundo vector se transfecta en células hospedadoras. En algunas modalidades, se usa una relación de masa de entre 1:1 y 1:5 para el vector que codifica la cadena pesada y el vector que codifica la cadena ligera. En algunas modalidades, se usa una relación de masa de 1:2 para el vector que codifica la cadena pesada y el vector que codifica la cadena ligera.

En algunas modalidades, se selecciona un vector que se optimiza para la expresión de polipéptidos en células CHO o derivadas de CHO o en células NSO. Se describen dichos vectores de ejemplo, por ejemplo, en Running Deer et ál., 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:880-889.

Células hospedadoras

En algunas modalidades, las cadenas pesadas de anticuerpo anti-LILRB2 y/o las cadenas ligeras de anticuerpo anti-LILRB2 se pueden expresar en células procariotas, tales como células bacterianas; o en células eucariotas, tales como células fúngicas (tales como levadura), células vegetales, células de insectos y células de mamíferos. Tal expresión se puede llevar a cabo, por ejemplo, de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. Los ejemplos de células eucariotas que se pueden usar para

expresar polipéptidos incluyen, de modo no taxativo, células COS, que incluyen células COS 7; células 293, que incluyen células 293-6E; células CHO, que incluyen CHO-S, DG44. Células CHO Lec13 y células CHO FUT8; células PER.C6® (Crucell) y células NSO. En algunas modalidades, las cadenas pesadas de anticuerpo anti-LILRB2 y/o las cadenas ligeras de anticuerpo anti-LILRB2 se pueden expresar en levadura. Véase, por ejemplo, publicación estadounidense n.º U.S. 2006/0270045 A1. En algunas modalidades, se selecciona una célula hospedadora eucariota particular en función de su capacidad de realizar modificaciones postraduccionales deseadas a las cadenas pesadas de anticuerpo anti-LILRB2 y/o cadenas ligeras de anticuerpo anti-LILRB2. Por ejemplo, en algunas modalidades, las células CHO producen polipéptidos que tienen un mayor nivel de sialilación que el mismo polipéptido producido en las células 293.

La introducción de uno o más ácidos nucleicos en una célula hospedadora deseada puede lograrse mediante cualquier método, lo que incluye, de modo no taxativo, transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por lípidos catiónicos, electroporación, transducción, infección, etc. Los ejemplos de métodos no taxativos se describen, por ejemplo, en Sambrook et ál., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 3ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Los ácidos nucleicos se pueden transfectar de forma transitoria o estable en las células hospedadoras deseadas, de acuerdo con cualquier método adecuado.

También se proporcionan células hospedadoras que comprenden cualquiera de los polinucleótidos o vectores descritos en la presente. En algunas modalidades, se proporciona una célula hospedadora que comprende un anticuerpo anti-LILRB2. Toda célula hospedadora capaz de sobreexpresar ADN heterólogo se puede utilizar con el fin de aislar los genes que codifican el anticuerpo, polipéptido o proteína de interés. Los ejemplos no taxativos de células hospedadoras de mamífero incluyen, de modo no taxativo, células COS, HeLa y CHO. Véase también, la publicación PCT n.º WO 87/04462. Las células hospedadoras que no son de mamífero adecuadas incluyen procariotas (tales como *E. coli* o *B. subtilis*) y levadura (tales como *S. cerevisiae*, *S. pombe*; o *K. lactis*).

Purificación de anticuerpos

Los anticuerpos anti-LILRB2 se pueden purificar mediante cualquier método adecuado. Dichos métodos incluyen, de modo no taxativo, el uso de matrices de afinidad o cromatografía de interacción hidrófoba. Los ligandos de afinidad adecuados incluyen ECD del ROR1 y ligandos que se unen a regiones constantes del anticuerpo. Por ejemplo, se puede usar una Proteína A, Proteína G, Proteína A/G o una columna de afinidad de anticuerpos para unir la región constante y para purificar un anticuerpo anti-LILRB2. La cromatografía interactiva hidrofóbica, por ejemplo, una columna de butilo o fenilo, también puede ser adecuada para purificar algunos polipéptidos, tales como anticuerpos. La cromatografía de intercambio iónico (por ejemplo, cromatografía de intercambio aniónico y/o

cromatografía de intercambio catiónico) también puede ser adecuada para purificar algunos polipéptidos, tales como anticuerpos. La cromatografía de modo mixto (por ejemplo, intercambio aniónico/fase inversa, intercambio catiónico/fase inversa, intercambio aniónico/interacción hidrofílica, intercambio catiónico/interacción hidrofílica, etc.) también puede ser adecuada para purificar algunos polipéptidos, tales como anticuerpos. En la técnica se conocen muchos métodos para purificar polipéptidos.

Producción de anticuerpos libre de células

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 se produce en un sistema libre de células. Los sistemas libre de células de ejemplos no taxativos se describen, por ejemplo, en Sitaraman et ál., 2009, *Methods Mol. Biol.* 498: 229-44; Spirin, 2004, *Trends Biotechnol.* 22: 538-45; Endo et ál., 2003, *Biotechnol. Adv.* 21: 695-713.

Composiciones

En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos preparados mediante los métodos descritos anteriormente. En algunas modalidades, el anticuerpo se prepara en una célula hospedadora. En algunas modalidades, el anticuerpo se prepara en un sistema libre de células. En algunas modalidades, el anticuerpo se purifica. En algunas modalidades, el anticuerpo preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células es un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, el anticuerpo preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células es un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células es un anticuerpo humano. En algunas modalidades, se proporciona un medio de cultivo celular que comprende un anticuerpo anti-LILRB2. En algunas modalidades, se proporciona un fluido de cultivo celular hospedador que comprende un anticuerpo anti-LILRB2.

En algunas modalidades, se proporcionan composiciones que comprenden anticuerpos preparados mediante los métodos descritos anteriormente. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo preparado en una célula hospedadora. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo preparado en un sistema libre de células. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo purificado. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo quimérico preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo humanizado preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo humano preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células.

En algunas modalidades, se proporciona una composición que comprende el anticuerpo anti-LILRB2 a una concentración de más de aproximadamente cualquiera de 10 mg/mL, 20 mg/mL, 30 mg/mL, 40 mg/mL, 50 mg/mL, 60 mg/mL, 70 mg/mL, 80 mg/mL, 90 mg/mL, 100 mg/mL, 125 mg/mL, 150 mg/mL, 175 mg/mL, 200 mg/mL, 225 mg/mL o 250 mg/mL. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo quimérico preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo humanizado preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células. En algunas modalidades, la composición comprende un anticuerpo humano preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células.

10 **V. Composiciones y métodos terapéuticos**

Métodos para tratar enfermedades mediante el uso de anticuerpos anti-LILRB2

Los anticuerpos y composiciones que comprenden anticuerpos se proporcionan para usar en métodos de tratamiento para humanos o animales. También se proporcionan métodos para tratar una enfermedad que comprende la administración de anticuerpos anti-LILRB2. Los ejemplos no taxativos de enfermedades que se pueden tratar con anticuerpos anti-LILRB2 incluyen, de modo no taxativo, cáncer.

Más detalladamente, los ejemplos de enfermedades, por ejemplo, el cáncer, que se pueden tratar de acuerdo con los métodos de la invención incluyen cánceres linfáticos/hematológicos sólidos y también crecimiento maligno, premaligno y benigno, tal como displasia. Los ejemplos de cánceres incluyen, de modo taxativo, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los ejemplos no taxativos más particulares de dichos cánceres incluyen, cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales, por ejemplo, carcinoma de células renales papilares), cáncer de células escamosas, mesotelioma, teratoma, cáncer pulmonar microcítico, cáncer hipofisario, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma pulmonar, carcinoma escamoso pulmonar), cáncer peritoneal, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal (por ejemplo, cáncer de estómago), cáncer pancreático, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer rectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, timoma, carcinoma hepático, cáncer cerebral, glioma, glioblastoma, cáncer de endometrio, cáncer testicular, colangiocarcinoma, colangiosarcoma, carcinoma de la vesícula biliar, cáncer gástrico, melanoma (por ejemplo, melanoma uveal), feocromocitoma, paraganglioma, carcinoma adenoideo quístico y diversos tipos de cánceres de cabeza y cuello (por ejemplo, el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello).

El anticuerpo anti-LILRB2 se puede administrar a los sujetos según sea necesario. Los expertos en la técnica pueden llevar a cabo la determinación de la frecuencia de administración, tales como un

médico tratante en función de las consideraciones de la afección que está siendo tratada, edad del sujeto que está siendo tratado, gravedad de la afección que está siendo tratada, estado general de salud del sujeto que está siendo tratado y similares. En algunas modalidades, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo anti-LILRB2 a un sujeto una o más veces. En algunas modalidades, una dosis eficaz de un anticuerpo anti-LILRB2 se administra al sujeto una vez al mes, menos de una vez al mes, tal como, por ejemplo, cada dos meses o cada tres meses. En algunas modalidades, una dosis eficaz de un anticuerpo anti-LILRB2 se administra menos de una vez al mes, tal como, por ejemplo, cada dos semanas o una vez a la semana. Una dosis eficaz de un anticuerpo anti-LILRB2 se administra al sujeto al menos una vez. En algunas modalidades, la dosis eficaz de un anticuerpo anti-LILRB2 se puede administrar múltiples veces, lo que incluye durante períodos de al menos un mes, al menos seis meses o al menos un año.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento (lo que incluye la profilaxis) de cáncer. La cantidad con eficacia terapéutica depende normalmente del peso del sujeto en tratamiento, su afección física o de salud, la extensión de la afección que se haya de tratar, o la edad del sujeto que se haya de tratar. En general, los anticuerpos anti-LILRB2 se pueden administrar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 10 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 50 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 100 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 100 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se administran en una cantidad eficaz para provocar la conversión de macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1.

La cantidad con eficacia terapéutica depende normalmente del peso del sujeto en tratamiento, su afección física o de salud, la extensión de la afección que se haya de tratar, o la edad del sujeto que se haya de tratar. En general, los anticuerpos anti-LILRB2 se pueden administrar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 10 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 50 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg en

peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 100 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 100 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis.

Composiciones farmacéuticas

En algunas modalidades, las composiciones que comprenden anticuerpos anti-LILRB2 se proporcionan en formulaciones con una gran variedad de portadores farmacéuticamente aceptables (véase, por ejemplo, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20.a ed. (2003); Ansel et ál., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7.^a ed., Lippencott Williams y Wilkins (2004); Kibbe et ál., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3.^a ed., Pharmaceutical Press (2000)). Se encuentran disponibles diversos excipientes farmacéuticamente aceptables, que incluyen vehículos, adyuvantes y diluyentes. Además, también están disponibles diversas sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como sustancias de corrección y amortiguación del pH, sustancias de corrección de la tonicidad, estabilizadores, humectantes y similares. Los ejemplos no taxativos de portadores incluyen solución salina, solución salina amortiguada, dextrosa, agua, glicerol, etanol, y combinaciones de estos.

En algunas modalidades, se proporciona una composición que comprende un anticuerpo anti-LILRB2. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo preparado en una célula hospedadora o un sistema libre de células, tal como se describe en la presente. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento (lo que incluye la profilaxis) de cáncer. La cantidad con eficacia terapéutica depende normalmente del peso del sujeto en tratamiento, su afección física o de salud, la extensión de la afección que se haya de tratar, o la edad del sujeto que se haya de tratar. En general, los anticuerpos anti-LILRB2 se pueden administrar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 10 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los

anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 50 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 100 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg en peso corporal por dosis.

- 5 En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 100 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,5 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 20 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden administrarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 mg/kg en peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg en peso corporal por dosis. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 se pueden administrar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 5 mg/kg en peso corporal o menos, por ejemplo, menos de 4, menos de 3, menos de 2 o menos de 1 mg/kg del anticuerpo.
- 10
- 15

- En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 pueden presentarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 50 µg/kg en peso corporal a aproximadamente 5 mg/kg en peso corporal por dosis. Por ejemplo, en algunas modalidades, una dosis para una persona de 20 kg se puede encontrar en un intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg. En algunas modalidades, la dosis se puede encontrar en un intervalo de 2 mg a 200 mg del anticuerpo anti-LILRB2. En algunas modalidades, la dosis se puede encontrar en un intervalo de 10 mg a 400 mg del anticuerpo anti-LILRB2.
- 20
- 25

Vías de administración

- En algunas modalidades, los anticuerpos anti-LILRB2 se pueden administrar in vivo mediante varias vías, las que incluyen, de modo no taxativo, intravenosa, intraarterial, parenteral, intratumoral, intraperitoneal o subcutánea. La formulación y vía de administración adecuadas pueden seleccionarse de acuerdo con la aplicación prevista.
- 30

Terapia combinada

Se pueden administrar anticuerpos anti-LILRB2 solos o con otros modos de tratamiento, por ejemplo, con un agente terapéutico adicional. Pueden proporcionarse antes, prácticamente de forma contemporánea o luego de otros modos de tratamiento, por ejemplo, cirugía, quimioterapia, radioterapia o la administración de un anticuerpo biológico, tal como otro anticuerpo terapéutico. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 se administra junto con otro agente contra el cáncer.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra con una terapia con PD-1. Las terapias con PD-1 de ejemplo incluyen, de modo no taxativo, nivolumab (BMS-936558, MDX-1106, ONO-4538); pidilizumab, lambrolizumab/pembrolizumab (KEYTRUDA, MK-3475); durvalumab; RG-7446; avelumab (MSB-0010718C); AMP-224; BMS-936559 (un anticuerpo anti-PD-L1); AMP-514; MDX-1105; ANB-011; anti-LAG-3/PD-1; Ab anti-PD-1 (CoStim); anti-PD-1 Ab (Kadmon Pharm.); Ab anti-PD-1 (Immunovo); anti-TIM-3/PD-1 Ab (AnaptysBio); Ab anti-PD-L1 (CoStim/Novartis); MEDI-4736 (un anticuerpo anti-PD-L1, Medimmune/AstraZeneca); RG7446/MPDL3280A (un anticuerpo anti-PD-L1, Genentech/Roche); KD-033, antagonista PD-1 (Agenus); STI-A1010; STI-A1110; TSR-042; y otros anticuerpos y otros agentes que se dirigen contra la muerte programada-1 (PD-1) o ligando de muerte programada 1 (PD-L1) (por ejemplo, JTX-4014, US 2018/0118829).

En algunas modalidades, se selecciona un sujeto para el tratamiento con un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente y una terapia con PD-1 si el tumor del sujeto es PD-L1^{ALTO}. Se puede determinar el nivel de PD-L1, por ejemplo, usando IHC. En algunas modalidades, un sujeto se trata primero con una terapia con PD-1 y se trata después con un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente, con o sin continuar la terapia con PD-1. Por lo tanto, los métodos que se proporcionan en la presente incluyen el tratamiento de un sujeto con un anticuerpo anti-LILRB2, donde el sujeto fue tratado previamente con una terapia con PD-1.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra a pacientes que muestran la presencia de macrófagos en uno o más tumores. La presencia de macrófagos se puede determinar mediante, por ejemplo, distintivo de ARNm o IHC.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra con una o más terapias que se seleccionan de: un anticuerpo anti-CD47 (por ejemplo, CC90002 (Celgene) o Hu5F9-G4 (Forty Seven, Inc.)); un anticuerpo alfa anti-SIRP (por ejemplo, OSE-172 (OSE Immunotherapeutics)); IL-2 pegilado (por ejemplo, NKTR-214 (Nektar Therapeutics)); un anticuerpo anti-VEGF (por ejemplo, bevacizumab (AVASTIN®)); TTI-621 o TTI-624 (Trillium Therapeutics SIRPa-Fc); ALX148 (Alexo, SIRPa-Fc), y un inhibidor del IDO (por ejemplo, epacadostat (Incyte)).

En algunas modalidades, se selecciona un sujeto para el tratamiento con un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente y una terapia con ICOS (por ejemplo, JTX-2011, por ejemplo, como se describe en la publicación de patente estadounidense n.º 2016/0304610, que se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad). En algunas modalidades, un sujeto se trata primero con una terapia con ICOS y se trata después con un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente, con o sin continuar la terapia con ICOS. Por lo tanto, los métodos que se proporcionan en la presente incluyen el tratamiento de un sujeto con un anticuerpo anti-LILRB2, donde el sujeto fue tratado previamente con una terapia con ICOS.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra con un anticuerpo anti-OX40 agonista (tal como Medi6469, MedImmune; MOXR0916/RG7888, Roche). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra con un anticuerpo anti-CTLA4 agonista (tal como ipilimumab, YERVOY®, BMS-734016; MDX-101).

En algunas modalidades, un agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos que se pueden combinar con los anticuerpos anti-LILRB2 que se proporcionan en la presente incluyen, de modo no taxativo, capecitabina, ciclofosfamida, dacarbazina, temozolomida, ciclofosfamida, docetaxel, doxorubicina, daunorubicina, cisplatino, carboplatino, epirubicina, eribulina, 5-FU, gemcitabina, irinotecano, ixabepilona, metotrexato, mitoxantrona, oxaliplatino, paclitaxel, nab-paclitaxel, ABRAXANE® (paclitaxel unido a proteínas), pemetrexed, vinorelbina y vincristina. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra con al menos un inhibidor de cinasa. Los ejemplos no taxativos de inhibidores de cinasa incluyen erlotinib, afatinib, gefitinib, crizotinib, dabrafenib, trametinib, vemurafenib y cobimetanib.

En algunas modalidades, el agente terapéutico adicional es un inhibidor de IDO. Los ejemplos no taxativos de inhibidores de IDO se describen, por ejemplo, en US 2016/0060237 y US 2015/0352206. Ejemplos no taxativos de inhibidores de IDO incluyen Indoximod (New Link Genetics), INCB024360 (Incyte Corp.), 1-metil-D-triptófano (New Link Genetics) y GDC-0919 (Genentech).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente se administra en combinación con un fármaco que modifica el sistema inmunitario (IMiD). Los ejemplos no taxativos de IMiD incluyen talidomida, lenalidomida y pomalidomida.

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-LILRB2 se administra con un segundo método terapéutico para el tratamiento. Por lo tanto, la administración de un anticuerpo proporcionado en la presente puede ser en combinación con otro sistema de tratamiento.

En algunas modalidades, un agente terapéutico adicional es una vacuna contra el cáncer. Se han investigado las vacunas contra el cáncer como un enfoque mejora para la transferencia de antígenos y la activación de células dendríticas. En particular, la vacuna en combinación con puntos de control inmunológicos o agonistas para vías coestimuladoras ha mostrado evidencia de superación de la tolerancia y generación de un aumento de la respuesta antitumoral. Se ha evaluado un rango de vacunas contra el cáncer que emplean enfoques diferentes para promover una respuesta inmunitaria contra el tumor (véase, por ejemplo, Emens, 2008, *Expert Opin. Emerg. Drugs*, 13(2): 295–308). Los enfoques se han diseñado para mejorar la respuesta de linfocitos B, linfocitos T o células que presentan antígenos profesionales contra tumores. Ejemplos de tipos de vacunas contra el cáncer incluyen, de modo no taxativo, vacunas basadas en péptidos que emplean la selección como diana de antígenos tumorales distintos, los que se pueden administrar como péptidos/proteínas o como vectores de ADN genéticamente modificados, virus, bacterias o similares, y enfoques de biología celular, por ejemplo, para el desarrollo de vacunas contra el cáncer contra dianas no tan bien definidas, lo que incluye, de modo no taxativo, vacunas desarrolladas a partir de células dendríticas derivadas del paciente, células tumorales autólogas o lisados celulares tumorales, células tumorales alogénicas y similares.

Los ejemplos no taxativos de vacunas contra el cáncer también incluyen Sipuleucel-T, la que deriva de células mononucleares de sangre periférica autólogas (PBMC, por sus siglas en inglés) que incluyen células presentadoras de antígenos (véase, por ejemplo, Kantoff PW et ál., 2010, *N Engl J Med* 363:411-22). En la generación de Sipuleucel-T, se activan las PBMC del paciente ex vivo con PA2024, una proteína de fusión recombinante de fosfatasa de ácido prostático (un antígeno de la próstata) y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (un activador de células inmunitarias). Otro enfoque para una vacuna contra el cáncer candidata es la generación de una respuesta inmunitaria contra péptidos específicos mutados en el tejido tumoral, tal como melanoma (véase, por ejemplo, Carreno et ál., 2015, *Science* 348:6236). En algunas modalidades, se puede hacer referencia a dichos péptidos mutados como neoantígenos. Como ejemplo no taxativo del uso de neoantígenos en vacunas contra tumores, se identifican los neoantígenos en el tumor que se predice que se unirán a la proteína del complejo principal de histocompatibilidad HLA-A*02:01 para pacientes individuales con un cáncer, tal como melanoma. Las células dendríticas del paciente se maduran ex vivo, luego se incuban con neoantígenos. Luego, las células dendríticas activadas se administran al paciente. En algunas modalidades, luego de la administración de la vacuna contra el cáncer, se puede detectar una fuerte inmunidad de linfocitos T contra el neoantígeno.

En algunas de estas modalidades, se desarrolla la vacuna contra el cáncer con un neoantígeno. En algunas modalidades, la vacuna contra el cáncer es una vacuna de ADN, tal como una vacuna de ADN de mamaglobina-A (véase, por ejemplo, Gillanders et ál., 2014, *Clin. Canc. Res.*, 20: 5964-75). En

algunas modalidades, la vacuna contra el cáncer es un virus modificado que comprende un antígeno de cáncer, tal como PROSTVAC (rilimogene galvacirepvec/rilimogene glafolivec). En algunas modalidades, la vacuna contra el cáncer comprende células tumorales modificadas, tal como GVAX, la cual es una vacuna de célula tumoral transfectada por el gen del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (véase, por ejemplo, Nemunaitis, 2005, *Expert Rev Vaccines*, 4: 259-74).

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-LILRB2 descrito en la presente se administra antes, de forma concurrente y/o después de una vacuna contra el cáncer. En algunas modalidades, se utilizan las vacunas contra el cáncer desarrolladas con neoantígenos en combinación con los anticuerpos anti-LILRB2 que se describen en la presente. En algunas de estas modalidades, se utiliza la combinación para tratar un cáncer con una carga mutacional elevada, tal como melanoma, cáncer de pulmón, vejiga o colorrectal.

En algunas modalidades, se administra un anticuerpo anti-LILRB2 que se proporciona en la presente en combinación con una terapia de linfocitos T receptores de antígenos quiméricos (terapia con CAR-T). La célula CAR-T puede modificarse genéticamente para que exprese un receptor que reconoce un antígeno expresado por la célula tumoral. El antígeno puede ser un antígeno específicamente expresado por el tumor o un antígeno expresado tanto por células cancerosas como por tejido sano. En algunas modalidades, el linfocito CAR-T es un linfocito CAR-T anti-BCMA. En algunas modalidades, la terapia con CAR-T es terapia con CAR-T adoptiva, en la que se extraen linfocitos T de un paciente y se modifican para expresar el receptor de antígenos quiméricos, y, luego, se devuelven al paciente. Véase, por ejemplo, Dai et ál., 2016, *J Natl Cancer Inst*, 108 (7): djv439, doi: 10.1093/jnci/djv439; Gill et ál., 2015, *Blood Rev*, pii: S0268-960X(15)00080-6, doi: 10.1016/j.blre.2015.10.003; Gill et ál., 2015, *Immunol. Rev*, 263(1):68-89. doi: 10.1111/imr.12243.

Kits/artículos de fabricación

En la presente también se proporcionan kits, medicinas, composiciones y formas de dosificación unitarias para su uso en cualquiera de los métodos descritos en la presente.

Los kits pueden incluir uno o más recipientes que comprenden un anticuerpo anti-LILRB2 (o formas de dosificación unitarias y/o artículos de fabricación). En algunas modalidades, se proporciona una dosificación unitaria que contiene una cantidad predeterminada de una composición que comprende un anticuerpo anti-LILRB2, con o sin uno o más agentes adicionales. En algunas modalidades, se suministra dicha dosis unitaria en una jeringa precargada de un solo uso para la inyección. En algunas modalidades, la composición contenida en la dosificación unitaria puede comprender solución salina, sacarosa o similares; un amortiguador, tal como fosfato o similares; y/o se puede formular en un intervalo de pH estable y eficaz. En algunas modalidades, la composición se puede proporcionar como un polvo

lío filizado que se puede reconstituir tras la adición de un líquido adecuado, por ejemplo, agua estéril. En algunas modalidades, la composición comprende una o más sustancias que inhiben la agregación de proteínas, que incluyen, de modo no taxativo, sacarosa y arginina. En algunas modalidades, una composición comprende heparina y/o proteoglicano.

5 En algunas modalidades, la cantidad del anticuerpo anti-LILRB2 utilizada en la dosis unitaria puede ser cualquiera de las cantidades que se proporcionan en la presente para los distintos métodos y/o composiciones que se describen.

10 En algunas modalidades, los kits comprenden adicionalmente instrucciones para su uso en el tratamiento de cáncer de acuerdo con cualquiera de los métodos descritos en la presente. El kit puede comprender además una descripción de selección de un individuo o tratamiento adecuado. Las instrucciones suministradas en los kits suelen ser instrucciones escritas en una etiqueta o prospecto (por ejemplo, una hoja de papel incluida en el kit), pero también son aceptables las instrucciones legibles por computadora (por ejemplo, instrucciones cargadas en un disco de almacenamiento óptico o magnético). En algunas modalidades, el kit comprende adicionalmente otro agente terapéutico.

15 Los kits se encuentran en envases adecuados. Los envases adecuados incluyen, de modo no taxativo, viales, botellas, frascos, envases flexibles (por ejemplo, bolsas Mylar o de plástico selladas) y similares. Opcionalmente, los kits pueden proveer componentes adicionales, tales como soluciones amortiguadoras e información interpretativa. Por lo tanto, la presente solicitud también provee artículos de fabricación que incluyen viales (tal como viales sellados), botellas, frascos, envases flexibles y
20 similares.

EJEMPLOS

Los ejemplos que se describen a continuación pretenden ser puramente ilustrativos de la invención y de ningún modo deben considerarse como taxativos de la invención. No se pretende que los ejemplos impliquen que los experimentos a continuación son todos los que se llevaron a cabo ni los
25 únicos. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números usados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero deben contemplarse algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, la temperatura se proporciona en grados centígrados y la presión es atmosférica o cercana a esta.

30 **Ejemplo 1. Experimentos de cultivos celulares de HLA-G**

El siguiente ejemplo investiga el papel del HLA-G en la supresión de la función de células mieloides. La FIG. 1 muestra un modelo de una célula mielóide que expresa LILRB2 y una célula tumoral que expresa HLA-G. Se muestra un anticuerpo anti-LILRB2 bloqueador entre el LILRB2 expresado en la célula mielóide y el HLA-G expresado en la célula tumoral. El HLA-G multimérico expresado como

tetrámeros se usó en ensayos de células mieloides, humanas y primarias para investigar el papel del HLA-G en la supresión de la función de células dendríticas.

Se recolectaron las células dendríticas inmaduras no adherentes (iDC) y se lavaron dos veces en 1xDPBS (Gibco), y luego se colocaron en placas en 1×10^5 células por pocillo en una placa de fondo redondo de 96 pocillos tratada con cultivo de tejido en RPMI1640 complementado con GLUTAMAX™ (Gibco) y HI-FBS al 10 % (Sigma). Las iDC se colocaron en placas en medio solo o se maduraron en medios que contienen PGE2, IL-1 β y TNF α en presencia o ausencia del tetrámero de HLA-G (Fred Hutchinson Cancer Research Center) y se incubaron a 37 °C + CO₂ al 5 %. Después de 24 horas, se recolectaron los sobrenadantes para el análisis de citocinas mediante ensayo de perlas citométrico (CBA, por sus siglas en inglés) de acuerdo con el protocolo del fabricante (BD) y se analizaron usando un analizador C6 Accuri (BD). Las células se tiñeron con anticuerpos específicos para moléculas de presentación de antígenos importantes y se evaluó la expresión celular de estos marcadores usando un analizador de citometría de flujo FACSCELESTA™ (BD).

Las DC maduras en presencia del tetrámero de HLA-G mostraron una disminución en la expresión de marcadores de maduración CD80 y CD86 (FIG. 2A-2F). El efecto inhibitorio se abolió cuando los tetrámeros de HLA-G se incubaron con células dendríticas del donante LILRB2^{bajo} (FIG. 2G-2L). Estos resultados demuestran que el HLA-G soluble bloquea la maduración y capacidad de las células dendríticas de desarrollarse en células presentadoras de antígenos potentes y que la supresión mediada por HLA-G depende del LILRB2 expresado en células dendríticas.

Ejemplo 2. Generación de anticuerpos

Los ratones y ratas se inmunizaron con proteína LILRB2 humana o células que sobreexpresan LILRB2 humano y un plásmido de ADN que codifica el LILRB2 humano. Todos los anticuerpos excepto J-16 y J-18 hasta J-20 son de origen murino; J-16 y J-18 hasta J-20 derivan de inmunizaciones de ratas. Se analizaron los sobrenadantes del clon de hibridoma para la especificidad para el LILRB2 humano con respecto a otros miembros de la familia de LILR usando líneas celulares que sobreexpresan proteínas LILR de longitud completa. Los clones de hibridoma de interés se ampliaron y el sobrenadante se purificó para el análisis de anticuerpos más extensivo antes de que los clones de interés se secuenciaran y se produjeran de forma recombinante como quimeras de IgG4 humana. (Véanse las FIG. 3A y 3B.)

Ejemplo 3. Análisis del anticuerpo quimérico: Configuración inicial del análisis de anti-LILRB2

Debido al alto grado de similitud de secuencia entre los once miembros de la familia de LILR humana informados, se analizaron los anticuerpos para determinar la especificidad contra todos los miembros de la familia en el clon de hibridoma, aumento progresivo del hibridoma, etapas del anticuerpo

humanizado y quimérico. Se verificó la especificidad tanto en células como con la proteína recombinante usando FORTEBIO® OCTET® en la etapa del anticuerpo quimérico.

En las células, se definió la especificidad mediante la unión del anticuerpo por debajo de dos veces de un corte de control de isotipo. Se utilizaron anticuerpos de control positivo para establecer la expresión de miembros de la familia en la superficie celular y también se evaluaron los anticuerpos en comparación con el control positivo.

Para los ensayos de proteínas recombinantes solubles, se expresaron proteínas de la familia LILR recombinantes como proteínas de fusión Fc1 humanas y/o 6xHis. Se cargaron anticuerpos en sensores de captura antihumanos (AHC) a 10 µg/mL y los sensores se usaron como referencia en el amortiguador de cinética. Los anticuerpos de control se cargaron de forma similar en el sensor. Si se usaran las proteínas de fusión Fc humanas, los sensores se bloquearían con la proteína de Fc humana y se usarían como referencia en el amortiguador de cinética. Luego los sensores se probaron para determinar la asociación con las proteínas del miembro de familia a 300 nM. Se considera la unión una respuesta por encima del corte de 0,08 en el instrumento OCTET®.

Se seleccionaron anticuerpos anti-LILRB2 (hIgG4) quiméricos según la especificidad para el hLILRB2 expresado en células con respecto a diez miembros de la familia de LILR humanos adicionales, la capacidad de bloquear las interacciones del ligando para el LILRB2 expresado en células y la capacidad de convertir macrófagos similares a M2 en macrófagos similares a M1 que tienen un estado de activación inflamatoria en un ensayo de macrófagos humanos primarios. Se analizaron adicionalmente anticuerpos bloqueadores de ligandos, específicos para LILRB2 selectos por su unión a monocitos de primates no humanos (NHP). Se incluyó un anticuerpo de control de isotipo en todos los análisis para determinar las señales de fondo. Se describen más adelante criterios específicos y la estrategia realizada para identificar los anticuerpos quiméricos, específicos para hLILRB2 y bloqueadores de ligandos. Los resultados se resumen en las FIG. 3A y 3B y se describen más detalladamente a continuación.

Resumen de desecho de anticuerpos

Se desechó un subconjunto de anticuerpos contra LILRB2 usando OCTET® Red96 en formato de sándwich. En resumen, se cargó el anticuerpo #1 (que se indica en la columna 1) en un sensor de AHC a 10 µg/mL. Las puntas fueron tomadas como punto de referencia en amortiguador de cinética, se bloquearon con hFc1, se tomaron como punto de referencia en amortiguador de cinética y luego se cargaron con LILRB2 humano. Nuevamente las puntas se tomaron como punto de referencia en amortiguador de cinética y se cargaron con 10 µg/mL del anticuerpo #2 (que se indica en la fila 1). Los

valores de respuesta que se muestran en la Tabla 2 que sigue a continuación, es la unión del anticuerpo #2 en el formato sándwich descrito.

Tabla 2. Resultados del ensayo de unión competitiva

	J-17	J-19	J-11	J-03	J-16	J-07	J-04
J-17	-0,11	-0,10	-0,27	0,43	0,52	0,40	0,46
J-19	-0,21	-0,21	0,28	0,54	0,63	0,45	0,54
J-11	-0,39	0,71	-0,24	0,51	0,65	0,47	0,54
J-03	0,05	0,15	0,01	-0,08	-0,08	-0,07	-0,07
J-16	0,09	0,47	0,30	-0,28	-0,36	-0,26	-0,31
J-07	0,04	0,27	0,10	-0,29	-0,30	-0,28	-0,30
J-04	0,42	0,67	0,51	-0,10	-0,10	-0,10	-0,10

5

Los anticuerpos identificados como aglutinantes específicos para LILRB2 y bloqueadores potentes de la unión de HLA-G a LILRB2 (J-19, J-11 y J-17) caen en recipientes de epítopos de superposición cercanos, pero no completamente. J-11 y J-19 no bloquearon la unión de cada uno al LILRB2, pero ambos fueron bloqueados por J-17. Los anticuerpos que son específicos para LILRB2 pero que no bloquean HLA-G, J-04, J-03 y J-07, se unen en un recipiente separado de los tres anticuerpos que son específicos y bloquean el HLA-G, pero el mismo recipiente que un anticuerpo que bloquea la unión de HLA-G al LILRB2 pero tiene reacción cruzada con LILRA1, J-16. Los resultados se muestran en la Tabla 3, a continuación.

10

15

Tabla 3. Resultados del desecho de anticuerpos

mAb1	J-17	J-19	J-11	J-03	J-16	J-07	J-04
mAb bloqueado	J-19	J-17	J-17	J-16	J-03	J-16	J-16
mAb bloqueado	J-11			J-07	J-07	J-03	J-03
mAb bloqueado				J-04	J-04	J-04	J-07
Contenedor	A/B	A	B	C	C	C	C

Ejemplo 4. Análisis de anticuerpos quiméricos: Análisis contra la reactividad cruzada con miembros de la familia LILR

La finalidad de este análisis era identificar anticuerpos con unión específica a hLILRB2 expresado en células, con una selección inversa contra hLILRB1, hLILRB3, hLILRB4, hLILRB5, hLILRA1, hLILRA2, hLILRA3, hLILRA4, hLILRA5 y hLILRA6 expresados por células. Se analizaron 25 anticuerpos quiméricos (hIgG4) para determinar su especificidad de hLILRB2 celular. Se identificaron resultados positivos para la unión de hLILRB2 como anticuerpos que se unieron a hLILRB2-CHO-s en más de dos veces con respecto a la unión de mAb de control de isotipo. Los anticuerpos que también se unieron a células que expresan no LILRB2 más de dos veces con respecto a la unión de mAb de control de isotipo fueron llamados específicos para no LILRB2 o de reacción cruzada.

Tal como se muestra en la FIG. 4, el 76 % de los anticuerpos quiméricos probados confirmaron que se unen al LILRB2 humano expresado en células. El 78 % de estos anticuerpos de unión a hLILRB2 mostraron unión específica a hLILRB2 con respecto a los otros diez miembros de la familia hLILR sobreexpresados en CHO-s. Se descubrió que los anticuerpos detectados con una unión de más de 2 veces que el control de isotipo para otra línea celular que sobreexpresa LILR además de hLILRB2 CHO-s tienen reacción cruzada con hLILRB3, hLILRA1, hLILRA2 y/o hLILRA3. No se identificó ningún anticuerpo con reacción cruzada LILRB1, hLILRB4, hLILRA4, hLILRA5 o hLILRA6 en este análisis.

Ejemplo 5. Análisis de anticuerpos quiméricos: Análisis para mAb quiméricos anti-LILRB2 bloqueadores de HLA-G y mAb quiméricos anti-LILRB2 bloqueadores de HLA-A2

Se analizaron adicionalmente los anticuerpos para determinar su capacidad de bloquear las interacciones de ligando/receptor en un ensayo basado en células. Después de la unión de LILRB2 a HLA-G, las células mieloides se volvieron inmunosupresoras. Por lo tanto, se predice que identificar anticuerpos anti-LILRB2 que son capaces de bloquear interacciones de HLA-G:LILRB2 es beneficioso para promover respuestas antitumorales. Además del HLA-G, otro ligando de LILRB2 capaz de suprimir las células mieloides son las moléculas de clase I del complejo de mayor histocompatibilidad (MHC), tal como HLA-A2.

En el segundo análisis, 1×10^5 de células CHO-s que sobreexpresan el LILRB2 humano se colocaron en una placa tratada con cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos y se lavaron dos veces con 1xDPBS (Gibco) y se incubaron con 10 $\mu\text{g/mL}$ de anticuerpo primario (mAb anti-LILRB2 o control) preparado en amortiguador FACS 50 μL (1xDPBS que contiene HI-FBS al 2 % (Sigma) + azida sódica al 0,05 %). Después de la incubación con mAb durante 30 minutos a 4 °C, las células se lavaron dos veces con amortiguador FACS y luego se volvieron a suspender en 50 μL de amortiguador FACS que contiene 5 $\mu\text{g/mL}$ de tetrámero de HLA-A2 o HLA-G conjugado con APC (Fred Hutch). Las células

se incubaron protegidas de la luz durante 30-60 minutos a 4 °C. Después de la incubación con tetrámero, las células se lavaron en amortiguador FACS y se volvieron a suspender en amortiguador fijo (paraformaldehído al 1.5 % diluido en 1xDPBS). Las muestras se analizaron mediante el uso de un analizador de citometría de flujo Celesta (BD Biosciences). Los datos representan el porcentaje de tetrámero bloqueado mediante mAb con respecto al tetrámero solo, calculado de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de tetrámero bloqueado} = 100 - \left(\frac{(MFI_{\text{Tetrámero+mAb}})}{MFI_{\text{Tetrámero}}} \times 100 \right)$$

Los resultados de un estudio que distingue los anticuerpos bloqueadores de HLA-G de los anticuerpos no bloqueadores de HLA-G se muestran en la FIG. 5. Los anticuerpos capaces de bloquear las interacciones de HLA-G:LILRB2 en células se identifican como el porcentaje de tetrámero unido a células LILRB2+ en presencia del anticuerpo en comparación con el tetrámero unido a las células en ausencia del anticuerpo. Siete de un total de 25 anticuerpos anti-LILRB2 bloquearon la unión del tetrámero HLA-G a hLILRB2+ CHO-s en al menos el 50 %. Ninguno de los anticuerpos de control de isotipo evitó la unión de HLA-G a células LILRB2+.

Los resultados de un estudio que distingue los anticuerpos bloqueadores de HLA-A2 de los anticuerpos no bloqueadores de HLA-A2 se muestran en la FIG. 6. Los anticuerpos capaces de bloquear las interacciones de HLA-A2:LILRB2 en células se identifican como el porcentaje de tetrámero unido a células LILRB2+ en presencia del anticuerpo en comparación con el tetrámero unido a las células en ausencia del anticuerpo. Seis de un total de 25 anticuerpos anti-LILRB2 bloquearon la unión del tetrámero HLA-A2 a hLILRB2+ CHO-s en al menos el 50 %. Ninguno de los anticuerpos de control de isotipo evitó la unión de HLA-A2 a células LILRB2+.

Ejemplo 6. Análisis de anticuerpos quiméricos: Análisis de mAb quiméricos anti-LILRB2 para determinar la actividad biológica en el cultivo celular

Ensayo de liberación de citocinas en monocultivos de macrófagos humanos

Se diferenciaron los monocitos humanos primarios de sangre periférica de donantes saludables se diferenciaron en presencia de M-CSF. Después de siete días de diferenciación, 1×10^5 de macrófagos diferenciados por monocitos humanos (HMDM) se colocaron en placas por pocillo en una placa tratada con cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos en un volumen final de 200 μ L que contiene 100 ng/mL de LPS en ausencia y presencia de 1 μ g/mL de mAb solubles en medio de cultivo celular (RPMI (Gibco) +FBS al 10 % (Sigma)). Después de la incubación durante 24 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %, se

recolectó el sobrenadante y se llevó a cabo un ensayo de perlas de citocina (CBA) de acuerdo con el protocolo del fabricante (BD Biosciences) para medir las citocinas producidas en respuesta a los mAb. Las muestras se analizaron mediante el uso de un analizador de citómetro C6 Accuri (BD Biosciences). Los datos representan la media de dos a cuatro donantes.

5 Se detectó la producción de citocinas inflamatorias/M1 y antiinflamatorias/M2 mediante HMDM primarios tras el tratamiento con mAb anti-LILRB2 solubles como se muestra en las FIG. 7A y 7B. Las citocinas inflamatorias/M1 medidas incluyeron TNF α , así como también IL-6 e IL-1 β (no se muestran los datos). Las citocinas antiinflamatorias/M2 medidas incluyeron IL-10, así como también CCL-2 (no se muestran los datos). La producción de citocinas se describe como niveles normalizados con respecto al
10 tratamiento con LPS solo.

Se observó una correlación positiva entre la actividad promotora de M1 (según lo medido mediante el aumento de TNF α) y la capacidad de los mAb anti-LILRB2 de bloquear las interacciones de HLA-G/A:LILRB2 (FIG. 8A y 8B).

15 *Ensayo Nanostring de monocultivos de macrófagos humanos*

Se diferenciaron los monocitos humanos primarios en macrófagos en presencia de M-CSF. Después de siete días de diferenciación, 1×10^5 de HMDM, se colocaron en placas por pocillo en una placa tratada con cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos en un volumen final de 200 μ L que contiene 100 ng/mL de LPS en ausencia o presencia de 10 μ g/mL de mAb anti-hLILRB2 solubles en
20 medio de cultivo celular (RPMI (Gibco) +FBS al 10 % (Sigma)). Se prepararon condiciones similares para evaluar la actividad de mAb en ausencia de LPS. Las células se incubaron a 37 °C con CO₂ al 5 % y se colocaron en placas pocillos separados para evaluar los cambios génicos a las cuatro y 24 horas después del tratamiento. En cada punto de tiempo, se recolectó el sobrenadante y el ARN se extrajo de las células, se cuantificó usando Quibit, y se hizo el control de calidad usando el analizador de
25 fragmentos de AAT. Si se extrajo ARN suficiente de la muestra, se llevó a cabo la expresión génica mediante el uso del NanoString nCounter que usa el panel V2 de inmunología humano, así como también un aumento específico para macrófagos personalizado. La expresión génica se normalizó con la expresión de genes constitutivos, luego se realizaron umbrales de ruido usando los datos de sondas negativas. La expresión génica se transformó en el espacio log2 y los datos de las muestras que se
30 trataron con aglutinantes de LILRB2 se normalizaron con los datos de la muestra tratada con palivizumab del mismo donante. Los datos representan los resultados de cuatro donantes.

Los log2 (expresión génica) para cada donante y cada tratamiento se normalizaron con los log2 (expresión génica) en respuesta al control con palivizumab. Las Tablas 4 y 5 enumeran los genes expresados de forma diferencial en presencia o ausencia del LPS, respectivamente, calculado usando

la función de ttest en MATLAB. Los genes que tuvieron log2 promedio (cambio múltiplo) en todos los donantes ya sea de más de 1 (es decir, un aumento de 2 veces) o menos de -1 (es decir, disminución de 2 veces) con $p < 0,05$ en respuesta a todos los anticuerpos anti-LILRB2 en ausencia de LPS después de cuatro horas de exposición a los fármacos (Tabla 4) y genes que se expresaron de forma diferencial en respuesta a todos los anticuerpos anti-LILRB2 en presencia de LPS después de 24 horas de exposición a los fármacos (Tabla 5). Estos cambios fueron consistentes en todos los donantes y son la base para las puntuaciones de distintivos de monocultivos definidos en la sección de Histocultivos.

Tabla 4. Expresión génica diferencial de anti-LILRB2 de monocultivo a las cuatro horas sin LPS

CCL4	CCL2	TNFAIP6	CLEC4E	CCL18	CASP10	CIITA
IL8	IL7R	BCL2	NFKB2	GBP1	CASP2	
CCL3	DUSP4	CXCL2	CCL5	SOCS3	TLR7	
IL1B	TNFSF15	CCL20	CCL7	CSF1	MAF	
CXCL1	IL1RN	NFKB1	SRC	CD40	IFI16	
TRAF1	ICAM1	NFKBIA	CEBPB	CCL23	IL16	
IL1A	TNFAIP3	TNFRSF4	TLR2	NTSE	KLRC4	
TNF	CCL8	EGR1	CLEC5A	MBP	KLRK1	
IRAK2	CD83	NFKBIZ	RELB	TGFBR2	TLR8	
EGR2	TNFRSF9	PTGS2	PLAUR	BLNK	TNFSF10	

Tabla 5. Expresión génica diferencial de anti-LILRB2 de monocultivo a las 24 horas con LPS

IL6	IL23A	C3	IL21R
NTSE	CXCL2	CCL4	CXCL13
IL1A	ZEB1	GBP5	
CD123	PTGS2	SRC	
IL8	TNFSF15	CCL2	
CCL20	TNF	TGFBI	
IL1RN	DPP4	CR1	
CXCL1	ICAM5	C1QB	
IL1B	ITGAX	CD36	
SPP1	CCL3	TRAF5	

Ejemplo 7. Análisis de anticuerpos quiméricos: Análisis de mAb quiméricos anti-LILRB2 para determinar la reactividad cruzada con respecto a los primates no humanos

Métodos

Unión celular primaria

5 La expresión de LILRB2 en humanos está restringida a los tipos de células inmunitarias innatas que incluyen monocitos y neutrófilos. Se probaron mAb anti-LILRB2 bloqueadores de HLA-G/A selectos capaces de promover la conversión de macrófagos similares a M1 en M2 para determinar el potencial para unirse a monocitos humanos, de cyno y rhesus en la sangre entera. La sangre entera obtenida de donantes humanos, cyno y rhesus se obtuvo en tubos de heparina de sodio. Tras la recepción, se
10 incubaron 100 µL de sangre entera con reactivo bloqueador de receptor de Fc (TruStain, Biologend) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Después de una incubación de 15 minutos, se agregaron mAb biotinilados a la sangre a 25 µg/mL y se incubaron a temperatura ambiente. Después de 20 minutos, se agregaron estreptavidina-APC (BioLegend) diluidos y clon M5E2 anti-CD14-BV421 de reacción cruzada de humano/NHP (BioLegend) y se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente. Las células
15 de sangre roja se lisaron y las muestras se fijaron usando 1x de solución de Lyse/fija (BD Biosciences) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las muestras se analizaron mediante el uso de un analizador de citometría de flujo Celesta (BD Biosciences). Se identificaron monocitos en todas las especies como células Cd14^{hi} de dispersión lateral (SSC)^{hi}, se agregaron neutrófilos como célula SSC^{hi}CD14^{lo} y se identificaron los linfocitos como células SSC^{lo} Cd14^{neg}.

20

Unión celular a rhesus-LILRB2 sobreexpresado

Se evaluó la unión del mAb anti-hLILRB2 a la proteína LILRB2 de rhesus (LILRBb) al incubar las células LILRBb-CHOs con mAb anti-hLILRB2 selectos durante 30 minutos. Después de la incubación, las células se lavaron e incubaron con anti-hIgG-APC (Jackson Labs) de acuerdo con el protocolo del
25 fabricante. Se evaluó la unión celular mediante citometría de flujo mediante el uso de un analizador de citómetro de flujo Celesta (BD Biosciences).

Resultados

Todos los mAb anti-LILRB2 probados en este ensayo se unieron de forma preferencial a
30 monocitos y neutrófilos en linfocitos en sangre entera humana (FIG. 9A-9C). Un único mAb anti-LILRB2 mostró reactividad de especie cruzada con cyno y humano, con una unión preferencial similar a monocitos y neutrófilos en linfocitos. Los anticuerpos de control de isotipo no se unieron considerablemente a cualquier tipo de células en la sangre de NHP o humana. Las FIG. 10A y 10B confirman que estos resultados se traducen en células que sobreexpresan NHP LILRB2 (LILRBb), de

manera que el mismo anti-hLILRB2 que se combina en cruz de forma preferencial con monocitos y neutrófilos de NHP se une también específicamente a CHO-s sobrepresadas en LILRB2 de rhesus (LILRBb) de una manera que depende de la dosis y no presenta reactividad cruzada ante miembros de la familia relacionada estrechamente en LILRBa que incluyen rhesus.

5

Ejemplo 8. Humanización, caracterización por afinidad y estrategia de evaluación para anticuerpos quiméricos principales

Se humanizaron las quimeras principales mediante el injerto de CDR de anticuerpos principales en marcos humanos mientras que mantiene determinados aminoácidos para sostener la estructura de bucles y la interfaz de cadena. Un total de cinco regiones variables de cadena pesada y cinco regiones variable de cadena ligera se generaron y expresaron en combinación para crear un total de 25 variantes humanizadas en la estructura principal de IgG4 humana. Estas variantes se expresaron como proteína recombinante y se filtraron según la titulación y afinidad de proteínas con respecto al objetivo de LILRB2 humano. Los anticuerpos de caracterizaron además por propiedades funcionales y biofísicas para reducir el panel y seleccionar derivaciones humanizadas.

Mediante el uso de un chip de amina de alta capacidad de Mass-2 (Sierra Sensors) preinmovilizado con IgG antihumana de cabra AffiniPure y anticuerpo específico del fragmento de Fc γ , se capturaron anticuerpos humanizados en la superficie antihumana y luego se midió la unión al LILRB2-His humano mediante el flujo de seis concentraciones diferentes de 65 a 0,27 nM del analito por encima de la superficie del anticuerpo. Se quitó la superficie anti-LILRB2 (glicina 10 mM, pH 2,0) y se volvió a capturar entre todas las concentraciones o ciclos de solo amortiguador. Los datos se analizaron usando el software Analizador Sierra (versión 3.1.14). Todas las curvas se sustrajeron por duplicado y se ajustaron a un ajuste de 1:1 Langmuir. Los resultados se muestran en la Tabla 6, a continuación.

20

Tabla 6. Cinética de unión de anticuerpos

Referencia del anticuerpo	k_a [1/(M·s)]	k_d [1/s]	K_D [M]
J-19.h	$5,15 \times 10^5$	$1,35 \times 10^{-3}$	$2,62 \times 10^{-9}$
J-11.h	$3,70 \times 10^5$	$9,13 \times 10^{-4}$	$2,47 \times 10^{-9}$
J-17.h	$1,56 \times 10^6$	$4,43 \times 10^{-4}$	$2,85 \times 10^{-9}$
J-19.h1	$3,91 \times 10^5$	$1,07 \times 10^{-3}$	$2,73 \times 10^{-9}$
J-19.h2	$5,21 \times 10^5$	$2,38 \times 10^{-3}$	$4,58 \times 10^{-9}$
J-19.h3	$5,18 \times 10^5$	$1,01 \times 10^{-3}$	$1,96 \times 10^{-9}$
J19.h4	$5,13 \times 10^5$	$1,20 \times 10^{-3}$	$2,33 \times 10^{-9}$

Se caracterizaron además los anticuerpos anti-LILRB2 (hIgG4) humanizados según la especificidad para el hLILRB2 expresado en células con respecto a los otros diez miembros de la familia de LILR humanos, la capacidad de bloquear las interacciones del ligando con el LILRB2 expresado en células y la capacidad de convertir macrófagos similares a M2 en un estado de activación inflamatoria similar a M1 en un ensayo de macrófagos humanos primarios. Se analizaron adicionalmente los anticuerpos por su unión a monocitos de primates no humanos (NHP). Las variantes humanizadas se evaluaron adicionalmente para la afinidad de la EC/IC₅₀ específica para el LILRB2 expresado en células, bloqueo de ligandos y producción de citocinas en un ensayo funcional de macrófagos humanos primarios. Se incluyó un anticuerpo de control de isotipo en todos los análisis para determinar las señales de fondo. Se calcularon las EC/IC₅₀ según los datos no normalizados y transformados usando el software GraphPad Prism. Los resultados se resumen en las FIG. 11A y 11B y se describen más detalladamente a continuación.

Ejemplo 9. Caracterización de anticuerpos humanizados: Análisis de reactividad cruzada de la familia LILR

La finalidad de esta evaluación era verificar los anticuerpos anti-LILRB2, mantener la especificidad con respecto al hLILRB2 expresado en células después de la humanización sin unir otros miembros de la familia LILR relacionados que incluyen hLILRB1, hLILRB3, hLILRB4, hLILRB5, hLILRA1, hLILRA2, hLILRA3, hLILRA4, hLILRA5 y hLILRA6. Se identificaron resultados positivos para la unión de hLILRB2 como anticuerpos que se unieron en mayor o igual medida a tres veces por encima de una unión de anticuerpo de control de isotipo. Ninguna de las variantes probadas superó más de tres veces la unión no específica relativa al isotipo. Adicionalmente, se determinaron mediciones de afinidad basadas en células EC₅₀.

Métodos

Para probar la especificidad para hLILRB2 y no hacia cualquiera de los diez miembros de la familia LILR, se usó un enfoque de código de barras basado en células multiplexado mediante la tinción de células con tintas Far Red y/o Violet Cell Trace (Thermo Scientific) de acuerdo con el protocolo del fabricante o se dejaron sin teñir. En resumen, las células se lavaron dos veces con 1xDPBS y luego se incubaron con tinta diluida en 1xDPBS durante 20 minutos a 37 °C, mezclando suavemente cada 5-10 minutos. El etiquetado de tinta se inactivó mediante a la adición de igual volumen de HI-FBS al 100 % (Sigma) a las células. Nótese que las líneas celulares LILRB1, LILRB2, LILRB3, LILRB4 y LILRB5 son positivas para GFP, mientras que las líneas celulares LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5 y LILRA6 son positivas para GFP. Luego las células se lavaron dos veces en 1xDPBS y después las 11 líneas celulares se combinaron por pocillo en una placa tratada con cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos. Se colocaron en placas por pocillo al menos 25×10^3 células de cada línea celular. Las células se volvieron a suspender en anticuerpo primario (mAb anti-LILRB2 o control) preparado en amortiguador FACS (1xDPBS que contiene HI-FBS al 2 % (Sigma) + azida sódica al 0,05 %). Después de la incubación a 4 °C durante 30 minutos, las células se lavaron dos veces con 1xDPBS y se volvieron a suspender en IgG-PE antihumano (BioLegend) diluido 1:200 en amortiguador FACS. Después de una incubación de 30 minutos a 4 °C, protegidas de la luz, las células se lavaron en 1xDPBS y se volvieron a suspender en amortiguador fijo (paraformaldehído al 1.5 % diluido en 1xDPBS). Las muestras se analizaron mediante el uso de un analizador de citometría de flujo Celesta (BD Biosciences). Se determinó la intensidad de fluorescencia media geométrica (gMFI) de PE para cada anticuerpo en toda la línea celular. Se detectó la MFI de fondo con el control de isotipo y se midió la unión relativa de los anticuerpos probados como un valor de pliegue por encima del isotipo.

Resultados

De los anticuerpos humanizados anti-hLILRB2 probados por su unión y especificidad para hLILRB2, todos los anticuerpos se unieron altamente a hLILRB2 y no se unieron por cruzamiento a ninguno de los diez miembros de la familia hLILR adicionales en un ensayo de unión basado en células (FIG. 12). La EC_{50} de cada anticuerpo para CHO-s que expresan LILRB2 estuvo dentro del intervalo subnanomolar (FIG. 13).

Ejemplo 10. Caracterización de anticuerpos humanizados: Bloqueo de HLA-G y HLA-A2 para células hLILRB2+

Se evaluó la potencia de las variantes humanizadas seleccionadas para bloquear la interacción de HLA-G y HLA-A2 con hLILRB2 expresado por macrófagos humanos primarios. Los monocitos humanos primarios se diferenciaron en macrófagos en presencia de M-CSF. Después de siete días de diferenciación, 1×10^5 de HMDM se colocaron en una placa tratada con cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos y se lavaron dos veces con 1xDPBS (Gibco) y se incubaron con 50 µg/mL de anticuerpo primario (mAb anti-LILRB2 o control) preparado en amortiguador FACS (1xDPBS que contiene HI-FBS al 2 % (Sigma) + azida sódica al 0,05 %). Después de la incubación con mAb durante 30 minutos a 4 °C, las células se lavaron dos veces en amortiguador FACS y luego se volvieron a suspender en 50 µL de amortiguador FACS que contiene 5 µg/mL de tetrámero de HLA-A2 o HLA-G conjugado con APC (Fred Hutch). Las células se incubaron protegidas de la luz durante 30-60 minutos a 4 °C. Después de la incubación con tetrámero, las células se lavaron en amortiguador FACS y se volvieron a suspender en amortiguador fijo (paraformaldehído al 1.5 % diluido en 1xDPBS). Las muestras se analizaron mediante el uso de un analizador de citometría de flujo Celesta (BD Biosciences).

Tal como se muestra en la FIG. 14, todos los anticuerpos humanizados anti-hLILRB2 probados bloquearon la interacción de HLA-G con el hLILRB2 expresado por células con una EC_{50} en el intervalo nanomolar. Los valores de EC_{50} para cada una de las variantes se muestran en la FIG. 11B. Los anticuerpos de control que incluyen los controles de isotipo y los anticuerpos quiméricos anti-hLILRB2 no mostraron ninguna actividad en este ensayo.

Tal como se muestra en la FIG. 15, todos los anticuerpos humanizados anti-hLILRB2 probados bloquearon la interacción de HLA-A2 con el hLILRB2 expresado por células con una EC_{50} en el intervalo nanomolar. Los valores de EC_{50} para cada una de las variantes se muestran en la FIG. 11B.

Ejemplo 11. Caracterización de anticuerpos humanizados: Actividad biológica de los mAb anti-LILRB2 humanizados en el cultivo celular

Los macrófagos asociados al tumor (TAM) muestran un estado de activación funcional consistente con un macrófago inmunosupresor similar a M2. Sin querer limitarnos por la teoría, se ha formulado la hipótesis de que antagonizar el receptor inhibitor, LILRB2, en macrófagos evita la inducción de macrófagos inmunosupresores y promueve las respuestas hiperinflamatorias. Para caracterizar la actividad funcional de anticuerpos anti-LILRB2, se determinaron las EC/IC_{50} como una medición de potencia de mAb anti-LILRB2 capaces de convertir macrófagos similares a M2 en M1 en un ensayo de liberación de citocinas de macrófagos derivados de monocitos humanos (HMDM). Los anticuerpos con actividad sub-nM (EC_{50}) en este ensayo fueron denominados mAb promotores de M1.

Métodos

Después de siete días de diferenciación, 1×10^5 de HMDM, se colocaron en placas por pocillo en una placa tratada con cultivo de tejido de fondo redondo de 96 pocillos en un volumen final de 200 μ L que contiene 100 ng/mL de LPS en ausencia o presencia de mAb en medio de cultivo celular (RPMI (Gibco) +FBS al 10 % (Sigma)). Después de la incubación durante 24 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %, se recolectó el sobrenadante y se llevó a cabo un CBA de acuerdo con el protocolo del fabricante (BD Biosciences) para medir las citocinas producidas en respuesta a los mAb. Las muestras se analizaron mediante el uso de un analizador de citómetro C6 Accuri (BD Biosciences).

Resultados

Tal como se muestra en las FIG. 16A y 16B, todos los mAb anti-hLILRB2 humanizados mostraron actividad promotora de M1, mientras que se suprime la producción de citocinas asociadas a M2 que incluyen IL-10 y CCL-2. Se mostró que el 67 % de los mAb anti-hLILRB2 humanizados tienen actividad subnanomolar en este ensayo. Los valores de EC₅₀ para cada una de las variantes se muestran en la FIG. 10B.

Ejemplo 12. Caracterización de anticuerpos humanizados: Unión selectiva al LILRB2 de primate no humano (LILRBb)

Para evaluar los mAb humanizados para la reactividad de especie cruzada, se evaluaron los mAb bloqueadores de ligandos, específicos para hLILRB2 para determinar la unión selectiva adicional a células sobreexpresadas con LILRB2 de rhesus putativo (LILRBb) y no a miembros de la familia de LILR NHP estrechamente relacionados.

Métodos

Se evaluó la unión del mAb anti-hLILRB2 a la proteína LILRB2 de rhesus (LILRBb) al incubar las células LILRBb-CHOs con mAb anti-hLILRB2 selectos durante 30 minutos. Después de la incubación, las células se lavaron e incubaron con anti-hIgG-APC (Jackson Labs) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se evaluó la unión celular mediante citometría de flujo que usa un analizador de citómetro de flujo Celesta (BD Biosciences).

Resultados

Todos los mAb humanizados anti-hLILRB2 se unieron al LILRB2 de rhesus (LILRBb) de una manera que depende de la dosis y de forma específica (FIG. 17A). Estos mAb anti-hLILRB2 no se

unieron a la proteína LILRBa de rhesus relacionada estrechamente que se expresa en las células (FIG. 17B).

Ejemplo 13. Análisis de la expresión génica: Experimentos con histocultivos

5 Se obtuvieron nuevas muestras de tumores de riñón humano después de la cirugía. Se cortó y fijó una sección de cada tumor para el IHC. Aproximadamente 300 μ M de porciones de tumor restante se colocaron en una placa de seis pocillos. Se agregaron tratamientos indicados en el medio y las placas se incubaron a 37 °C. Cada porción se trató con 10 μ g/mL de uno de los seis fármacos durante 24 horas. Los seis tratamientos incluidos en el experimento son J-19, J-17 y J-11 (todos los aglutinantes de LILRB2 y bloqueadores de ligandos), J-04 (un aglutinante de LILRB2 que no bloquea la unión al ligando), un anticuerpo anti-TIM3 y palivizumab, que se usó como un control negativo.

10 Las porciones de tumor se lisaron usando el procesador TissueLyser de Qiagen y se desparafinaron las muestras embebidas en parafinas fijadas con formalina (FFPE, por sus siglas en inglés). El ARN se extrajo de muestras FFPE y de tumores nuevos, cuantificadas usando Quibit y, en determinados casos, se sometieron a control de calidad usando el analizador de fragmentos de AATI. Si se extrajo ARN suficiente de la muestra, se llevó a cabo la expresión génica mediante el uso del NanoString nCounter que usa el panel V2 de inmunología humano, así como también un aumento específico para macrófagos personalizado. La expresión génica se normalizó con la expresión de genes constitutivos y luego se realizaron umbrales de ruido usando los datos de sondas negativas. La expresión génica se transformó en el espacio log2 y los datos de las muestras que se trataron con aglutinantes de LILRB2 o anti-TIM3 se normalizaron con los datos de la muestra tratada con palivizumab del mismo paciente. La FIG. 18 muestra el cambio en la expresión génica en respuesta al tratamiento relativo al control con palivizumab. La expresión génica diferencial relativa al control con palivizumab se cuantifica en la Tabla 7 que sigue a continuación. Cada gen en la lista mostró expresión diferencial con respecto a al menos dos tratamientos con un valor p nominal inferior a 0,055. El cambio múltiplo en la expresión génica fue positivo para todos los tratamientos o negativo para todos los tratamientos.

Tabla 7. Expresión génica diferencial de histocultivos

Gen	J-04	J-17	J-11	J-19	TIM3
CD68	-0,29	-0,20	-0,24	-0,31	
CXCL9		0,98	0,80	0,72	0,67
G6PD		-0,21	-0,26	-0,25	-0,17
IL10	-0,41	-0,40	-0,37	-0,38	
IL6R	0,33	0,45	0,36	0,31	
ETS1	0,31	0,34			0,14
KCNJ2	0,55	0,49	0,82		
MASP1		0,46		0,36	0,32
ZEB1	0,33	0,41			0,21
BAT3			-0,15	-0,12	
CCL2		-0,50	-0,57		
CLEC4A			0,28	0,29	
CXCL11				0,93	0,78
GUSB		0,15		0,11	
IFITM1		0,48	0,42		
IL15			0,35		0,22
IL18R1		-0,22			-0,30
IRF1		0,47			0,39
ITGA6			0,39	0,29	
KLRC3	-0,44		-0,24		
PIGR		0,58		0,71	
PTPN22	-0,62		-0,21		
SDHA		0,25		0,20	
SLC2A1	0,27		0,45		
TAP1		0,24			0,24

Se muestra un mapa de calor de agrupamiento jerárquico que muestra el log₂ (cambio múltiplo) en la expresión génica de cada gen (fila) en cada muestra tratada (columna) en la FIG.19. Cada gen en la lista mostró expresión diferencial con respecto a al menos dos tratamientos con un valor p nominal inferior a 0,055. La expresión de genes del Conjunto 1 se regula por disminución generalmente en respuesta al tratamiento (cuadros grises) y la expresión de genes del Conjunto 2 se regula por disminución generalmente en respuesta al tratamiento (cuadros negros).

Se calculó una puntuación de respuesta para cada muestra agregando la suma del log2 (cambio múltiplo) de un subconjunto de genes en el Conjunto 2 a la suma del log2 (cambio múltiplo) de un subconjunto de genes en el Conjunto 1 y dividiendo entre la cantidad de genes incluidos, de acuerdo con la siguiente ecuación:

5

$$Punt. PD = \frac{1}{\# \text{ genes del Conjunto 1} + \# \text{ genes del Conjunto 2}} \left(\sum_{\text{Conjunto 2}} \log_2(\text{cambio múltiplo}) - \sum_{\text{Conjunto 1}} \log_2(\text{cambio múltiplo}) \right)$$

La puntuación de respuesta para cada donante con respecto a cada fármaco anti-LILRB2 bloqueador de ligandos se muestra en la FIG. 20. La respuesta al tratamiento es consistente en todos los tratamientos en el donante, por lo tanto, permite la clasificación de donantes por sus respuestas al tratamiento con anti-LILRB2. Los donantes con una puntuación de respuesta promedio mayor que 0,5 se clasifican como «pacientes que responden al tratamiento completo»; aquellos con una puntuación de respuesta promedio de entre 0,3 y 0,5 se clasifican como «pacientes que responden al tratamiento parcial»; aquellos con puntuaciones por debajo de 0,3 se clasifican como «pacientes que no responden al tratamiento».

Los distintivos de monocultivo derivaron según el log2 promedio (cambio múltiplo) en la expresión génica en todos los donantes en respuesta a fármacos bloqueadores de ligandos anti-LILRB2 en ausencia de LPS después de 4 horas y en presencia de LPS después de 24 horas (FIG. 21A y 21B). Se calcularon las puntuaciones de distintivos de monocultivo para cada muestra de histocultivo tratada con un fármaco bloqueador de ligandos anti-LILRB2 mediante la proyección del log2 (cambio múltiplo) en la expresión génica en el vector definido por el distintivo de monocultivo. Las puntuaciones de distintivos de monocultivos (cuatro horas en ausencia de LPS y 24 horas en presencia de LPS) son considerablemente mayores ($p < 0,01$) en pacientes que responden al tratamiento completo en comparación con los pacientes que responden al tratamiento parcial.

En suma, los resultados de monocultivos mostraron que los fármacos de unión a LILRB2 hacen que los macrófagos expresen de forma diferencial una cantidad de genes consistentemente en todos los donantes. El conjunto de genes que se moduló en este sistema constituye un distintivo de monocultivo que incorpora tanto la magnitud como la direccionalidad. Para confirmar que estas vías se modularían también en sistemas más complejos, se llevaron a cabo experimentos de histocultivos. El análisis de los datos de histocultivos muestra que la exposición de las porciones del tumor de riñón a los fármacos de unión a LILRB2 da lugar a la regulación por aumento de la expresión de quimiocinas o inflamatorias, así

como también la expresión diferencial de genes específicos mieloides conocidos. Los genes se corregulados y se expresan solamente de forma diferencial en un subconjunto de muestras. Este subconjunto de genes constituye el distintivo de respuesta de PD, que se usa para calcular las puntuaciones de respuesta y clasificar las muestras según la respuesta a los fármacos. Cabe destacar que los donantes que responden a un fármaco anti-LILRB2 responde generalmente a todos ellos. De manera adicional, cuando los datos de histocultivos se proyectaron en el distintivo de monocultivo, los pacientes que responden al tratamiento mostraron puntuaciones de monocultivo estadísticamente significativas. Por lo tanto, la modulación de los genes específicos mieloides fue consistente con los hallazgos en experimentos in vitro, lo que sugiere que las mismas vías biológicas se están viendo afectadas.

Ejemplo 14. Toxicología

La especificidad de los anticuerpos anti-LILRB2 se determinó mediante la evaluación de la unión de anticuerpos a los glóbulos rojos y plaquetas mediante citometría de flujo o a proteínas de suero mediante ELISA. No se observó ninguna unión fuera del objetivo en estos ensayos (FIG. 22).

Se evaluó el potencial para los anticuerpos anti-LILRB2 de provocar una tormenta de citocinas en un ensayo de liberación de citocinas en la sangre entera humana usando titulaciones de anticuerpos solubles. El ensayo se incubó durante 24 horas a 37 °C. Luego se aisló el plasma y se midieron las citocinas usando un panel MSD de citocinas 10. Los datos son la media +/- DE de tres donantes. Tal como se muestra en las FIG. 23A-23D, los anticuerpos anti-LILRB2 no mostraron inducción de citocinas asociadas con la tormenta de citocinas (por ejemplo, IL-4, IL-6, IL-18 o TNF α) en este ensayo.

Se evaluó el potencial de los anticuerpos anti-LILRB2 de inducir la activación de neutrófilos en la sangre entera humana usando titulaciones de anticuerpos solubles. El ensayo se incubó durante dos horas a 37 °C. Los cambios en los marcadores de activación de neutrófilos (aumento en CD11b y disminución en CD62L) se evaluaron mediante citometría de flujo. Los datos son media +/- DE de 2 donantes. Los anticuerpos anti-LILRB2 no indujeron la activación de neutrófilos, como se indica mediante expresión de CD11b baja (FIG. 24A y 24B) y la retención de CD62L (FIG. 24C y 24D).

Ejemplo 15. Farmacocinética

Los monos cynomolgus (n=3 por grupo) recibieron una única infusión intravenosa de la concentración indicada del anticuerpo anti-LILRB2. Las concentraciones en suero del fármaco se midieron usando un ensayo de electroquimioluminiscencia y los resultados, que se muestran en la FIG. 25, indican que la farmacocinética de dosis única en monos cynomolgus muestra una semivida típica de anticuerpos IgG4 humanos.

Para evaluar el efecto del anti-LILRB2 en poblaciones de neutrófilos, se llevó a cabo un ensayo de CBC en el estudio previo de monos cynomolgus y después de la dosificación de anticuerpos anti-LILRB2. Tal como se muestra en las FIG. 26A y 26B, los neutrófilos de la sangre periférica permanecieron dentro del intervalo normal y mostraron una tendencia descendente no significativa.

5

Ejemplo 16. Experimentos con ratones que no expresan Pirb

Los ratones homocigóticos que no expresan Pirb de ocho a doce semanas de edad o controles de crías de tipo salvaje fueron inoculados de forma subcutánea con células tumorales B16.SIY (1×10^6), LLC (2×10^5), o MC38 (5×10^5). Una vez que se sintieron los tumores palpables, los ratones se monitorean y se registraron las mediciones tumorales al menos dos veces a la semana hasta que los tumores superaron los 2,000 mm³ o los ratones tuvieron una disminución de peso corporal de más de 20 %. Algunos ratones fueron sacrificados antes para el análisis de células que infiltran tumores. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con las pautas institucionales para el cuidado y uso animal.

Se detectaron tumores en todos los ratones de tipo salvaje y en línea con la cinética de crecimiento histórico en Jounce Therapeutics. Mientras que no se observó ninguna diferencia significativa en el crecimiento de tumores B16.SIY o LLC entre ratones de tipo salvaje y los que no expresan Pirb (FIG. 27A, 27B, 28A y 28B), se descubrió una disminución considerable en el crecimiento tumoral MC38 en ratones que no expresan Pirb en comparación con los de tipo salvaje (FIG. 29A y 29B). El análisis de las células que infiltran tumores MC38 fue consistente con un fenotipo de macrófagos asociados al tumor que mostró menos características inmunosupresoras (IL-4R más bajo) y menor capacidad de presentación de antígenos (MHC clase II mayor) en ratones que no expresan Pirb en comparación con los controles de tipo salvaje (no se muestran los datos).

Ejemplo 17. Análisis de escaneo de alanina

Las regiones de cadena pesada y cadena ligera variables de J-19.h1 se establecen en la FIG. 30. La región determinante de complementariedad (CDR) de las cadenas ligeras y pesadas de J-19.h1 según lo definido por la definición de CDR de Kabat se indican en la FIG. 30 por medio del subrayado. Los residuos de unión clave de J-19.h1 necesarios para la unión del objetivo, LILRB2, se identificaron mediante la mutación de residuos individuales en las CDR. Se llevó a cabo el escaneo a través de la mutación de 34 residuos de cadena pesada y 18 de cadena ligera en las CDR individualmente a la alanina. Las mutaciones para el CDRL2 no se incluyeron ya que esta región de J-19.h1 no se determinó que contribuye con la unión de LILRB2. Una mutación completa de J-19.h1 para la secuencia CDRL2 de línea germinal no cambió la afinidad de unión para el objetivo.

Todas las variantes se produjeron de forma temporal en una línea celular de ovario de hámster chino y se purificaron usando amortiguador de citrato en un manipulador de líquidos automático. Las afinidades se determinaron usando un ForteBio Octet Red96. Las variantes de J-19.h1 se normalizaron a 10 ug/mL y se cargaron en los sensores de captura antihumano. Los sensores cargados se humedecieron luego en amortiguador de cinética para establecer una referencia y se sumergieron en pocillos que contienen LILRB2 en dos concentraciones de 50 nM y 5 nM, seguido por una etapa de disociación en el amortiguador. Los datos cinéticos se calcularon usando el software de análisis de datos ForteBio.

Las afinidades resultantes de las variantes de J-19.h1 con respecto al LILRB2 mostraron residuos clave, se destacaron en gris y son fundamentales para la unión de LILRB2. La mutación en alanina provocó afinidades que fueron 5 veces inferiores al control o provocó una supresión de unión completa. Los residuos con un subrayado punteado tuvieron afinidades entre 2 y 5 veces del control. Todos los demás residuos en la CDR mantuvieron una afinidad similar con el LILRB2 cuando se mutó en alanina.

Ejemplo 18. Cebadores qPCR

Los ensayos de qPCR comercialmente disponibles para el LILRB2 de Applied Biosystems (TaqMan) y Biorad (PrimePCR) no mostraron especificidad para su objetivo cuando siguen en el ADNc derivado del ARN de líneas celulares que sobreexpresan miembros de la familia LILR. Los miembros de la familia LILR tienen gran homología entre sí y los conjuntos de cebadores pueden producir, por lo tanto, efectos fuera del objetivo durante la PCR.

Se sometió a prueba el siguiente conjunto de cebadores en las líneas celulares que sobreexpresan y un conjunto de cebadores mostró especificidad en determinadas condiciones de la PCR. Las bibliotecas de ADNc se generaron usando tanto BioRad la supermezcla de Transcripción Inversa iScript como la mezcla maestra de Transcripción Inversa Fluidigm. Los conjuntos de cebadores, cuando no están acompañados con una sonda, se ejecutaron usando la supermezcla EvaGreen SsoFast BioRad con poca mezcla maestra ROX. Los conjuntos de cebadores con sondas se ejecutaron usando la Mezcla Maestra Avanzada Rápida TaqMan de Applied Biosystems. Los cebadores fueron ordenados a partir del IDT como oligos y las sondas fueron etiquetadas con FAM.

Tabla 8. Secuencias de cebadores y sondas

	Cebador directo	Cebador inverso	Sonda (si hubiera)
Conjunto 1	CACACAGCTCAACCTGGA CA	TGGGTAGGCTCCTGTCA TCA	

Conjunto 2	AGCTCAACCTGGACAGCA C	CTTGGGGATGGTCCCTG TCT	
Conjunto 3	ACACACAGCTCAACCTGG AC	CAGGCAGACTCAGATCA GCA	
Conjunto 4	CACACAGCTCAACCTGGA CA	CTGCAGGCAGACTCAGA TCA	
Conjunto 5	CCTGCATTTCTCCTCTGT GC	CTGTCCAGGTTGAGCTG TGT	
Conjunto 6	TCGCACAGGTGCTATGGT TA	GCACTGAGAGTGATGG CTTCTTA	
Conjunto 7	AGTAGAAGGAGACTCAG GACTG	TCCCAAAGTTCCCAGCA TC	AGCCTGGACCCCTAACAAA GACC
Conjunto 8	TTCCACACTTTCCTTCTG ACC	GGGAATTCAGCCTGGTA CTTAG	TGCCCCACTCCGTCTAAGAT CAATACA
Conjunto 9	CGTCACCCTCAGTTGTCA G	TCCGTGTAATCCAAGAT GCTG	CCTTGAAGCCCAGGAGTAC CGTCTA
Conjunto 10	CCTACTTCCCTGCATTTT TCC	CAGGCAGACTCAGATCA GC	AGCTCAACCTGGACGGCAC A
Conjunto 11	TTCTTCCCCTACTTCCCT GCATTTT	CTTCAAGGCTCCCCTGA CAAC	
Conjunto 12	GAAGTCAACTTTTCTTCC CCTAC	CAAGGCTCCCCTGACAA CT	
Conjunto 13	CACACAGCTCAACCTGGA CA	AGACTCAGCCCGAGACA GAT	
Conjunto 14	GTCAACTTTTCTTCCCCT ACTTC	AAGGCTCCCCTGACAAC TG	
Conjunto 15	AAGAAGCCATCACTCTCA GTGC	GTAGGAGCGGCTCACA GG	

Los cebadores directos para los conjuntos 1-15 son las SEQ ID NO: 135-149; los cebadores inversos para los conjuntos 1-15 son las SEQ ID NO: 150-164; las sondas para los conjuntos 7-10 son las SEQ ID NO: 165-168; cada uno en orden como se establece en la Tabla 8.

- 5 El conjunto 9 enumerado anteriormente probó ser específico para LILRB2 cuando se lo ensayó en las numerosas líneas celulares que sobreexpresan miembros de la familia LILR cuando se ejecutan

como un ensayo Taqman (tanto la mezcla maestra de Applied Biosystems como la mezcla maestra IDT GE), así como también un ensayo EvaGreen de conjuntos de cebadores (mezcla maestra de BioRad Master). Las condiciones de ciclos de PCR fueron las siguientes: Ciclo 1: 95 °C durante 60 segundos; Ciclo 2: 96 °C durante 5 segundos; Ciclo 3: 65 °C durante 20 segundos; Ciclos de repetición 2-3 durante 40 ciclos total; Curva de fusión para la química EvaGreen a partir de 60-95 °C. Secuencias de cebadores y sondas: Directo: CGTCACCCTCAGTTGTCAG (SEQ ID NO: 143); inverso: TCCGTGTAATCCAAGATGCTG (SEQ ID NO: 158); Sonda: CCTTGAAGCCCAGGAGTACCGTCTA (SEQ ID NO: 167).

La adición de hasta 5 nucleótidos a cualquier extremo de los cebadores no debería afectar la especificidad de la PCR por herramienta de PCC In-Silico UCSC (en negrita se encuentra el conjunto de cebadores validados húmedos) https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgPcr?hgsid=693240227_npi8w0U7mF4EWHuVaOYA4nlqdsZ AGTCC-**CGTCACCCTCAGTTGTCAG**-GGGAG (SEQ ID NO: 169); TCGTA-**TCCGTGTAATCCAAGATGCTG**-ATTTT (SEQ ID NO: 170).

Ejemplo 19. Se obtuvieron muestras de tumores humanos nuevos después de la cirugía

Se obtuvieron nuevas muestras de tumores humanos después de la cirugía. Se cortó y fijó una sección de cada tumor para el IHC. 300 µM de porciones de tumor restante se colocaron en una placa de 6 pocillos. Se agregaron tratamientos en el medio y las placas se incubaron a 37 °C. Las porciones de tumor se almacenaron en el ARN después de la incubación. Cada porción se trató con 10 µg/mL del fármaco durante 24 horas; en los casos en los que las muestras se trataron con más de un fármaco, se usaron 10 µg/mL de cada fármaco.

Las porciones de tumor se lisaron usando el procesador TissueLyser de Qiagen y se desparafinaron las muestras FFPE. El ARN se extrajo de muestras FFPE y tumores nuevos, cuantificadas usando Quibit y sometidas a control de calidad usando el analizador de fragmentos de AATI. Si se extrajo ARN suficiente de la muestra, se llevó a cabo la expresión génica mediante el uso del NanoString nCounter que usa el panel V2 de inmunología humano, así como también un aumento específico para macrófagos personalizado. La expresión génica se normalizó con la expresión de genes constitutivos, luego se realizaron umbrales de ruido usando los datos de sondas negativas y los datos se transformaron en el espacio log2. Por lo tanto, se hará referencia a estos datos como «expresión génica normalizada». Los datos de expresión génica normalizados se normalizaron además con los datos promedio de las muestras tratadas con palivizumab del mismo paciente. Por lo tanto, se hará referencia a estos datos como «expresión génica normalizada con palivizumab».

Se calcularon las puntuaciones de distintivos de farmacodinámica (PD) para cada muestra. Los distintivos de monocultivo derivan del log 2 promedio (cambio múltiplo en comparación con las muestras tratadas con palivizumab) en la expresión génica en todos los macrófagos derivados de monocitos de 4 donantes en respuesta a fármacos bloqueadores de ligandos anti-LILRB2 en ausencia del LPS después de 4 horas. Se calcularon las «puntuaciones de distintivos de monocultivos» para cada muestra de histocultivo tratada al proyectar la expresión génica normalizada con palivizumab en el vector definido por el distintivo de monocultivo. Se calcularon las «puntuaciones de distintivos de IFN γ » promediando la expresión génica normalizada con palivizumab de los 6 genes identificados por Hirsch et ál. (32.º Reunión anual y Programas de preconferencia de la Sociedad para la Inmunoterapia del Cáncer (SITC 2017): Parte Uno, P39; J. Immunother. Cancer 5 (Compl. 2):86, 2017) que muestra la expresión modulada en respuesta al tratamiento con anti-PD1. Se calcularon las «puntuaciones de distintivos Keytruda» promediando la expresión génica normalizada con palivizumab de los 18 genes identificados por Ayers et ál. (J. Clin. Invest. 127:2930-2940, 2017) como que son predictivas de la respuesta clínica al pembrolizumab.

Para evaluar el ruido en el sistema y determinar los límites de respuesta, 173 porciones tumorales (muestras) de 80 tumores de riñón, pulmón y cabeza y cuello se trataron con el palivizumab del anticuerpo de control durante 24 horas. Al menos dos muestras de cada tumor se trataron con palivizumab. El umbral de ruido para cada distintivo de respuesta de PD se definió como el percentil 95.º de la distribución de las puntuaciones de distintivos en todas las 173 muestras. Los tumores se clasifican como «que responden» a un fármaco particular si la puntuación de distintivo de PD promedio en todas las muestras de ese tumor tratado con ese fármaco es mayor que el umbral de ruido para ese distintivo.

Se caracterizaron las muestras de inicio (no tratadas) de la mayoría de los tumores. Se calcularon los distintivos específicos de tipos de células promediando la expresión génica normalizada de genes que se asocian con los tipos de células particulares. Se calculó el distintivo Keytruda para cada muestra de inicio promediando la expresión génica normalizada de los 18 genes identificados por Ayers et ál. (anteriormente) como que es predictivo de la respuesta clínica al pembrolizumab.

Los resultados de los experimentos descritos anteriormente se muestran en las FIG. 31-34.

La FIG. 31 es un histograma de las puntuaciones de respuestas IFN γ PD de 173 muestras tumorales de 80 tumores tratados con palivizumab durante 24 horas. En cada tumor, al menos dos muestras se trataron con palivizumab. El umbral de ruido para el distintivo se define como el percentil 95.º de la distribución. Para el distintivo de IFN γ , el umbral de ruido es 0,43

La FIG. 32 es un diagrama de Venn y gráfica que describen las tasas de respuesta PD a J-19.h1 en las 3 indicaciones: carcinoma de células renales, cáncer de cabeza y cuello y cáncer de pulmón. Los tumores se clasificaron como «pacientes que responden al tratamiento» si la puntuación de respuesta

PD promedio en todas las porciones tratadas con J-19.H1 para ese tumor es mayor que el umbral de ruido. Como se indicó anteriormente, el umbral de ruido para cada distintivo PD se define como el percentil 95.º de la distribución de las puntuaciones de respuesta PD de las muestras tratadas con palivizumab en todos los tumores con más de una muestra tratada con palivizumab. En el histocultivo, el J-19.H1 induce diferentes respuestas de PD en todas las indicaciones, lo que sugiere múltiples mecanismos de acción: el distintivo de monocultivo indica la polimerización de macrófagos; el distintivo de IFN gamma sugiere una respuesta similar para los inhibidores de puntos de control; el distintivo Keytruda es un signo de preparación tumoral para la respuesta a los inhibidores de puntos de control.

La FIG. 33 es una serie de gráficas que muestran las puntuaciones de distintivos de Keytruda calculadas para muestras no tratadas, según la expresión génica normalizada (la expresión génica bruta se normaliza para genes domésticos y sondas de control negativo, luego transformado por $\log_2$). Los tumores se clasifican como que responden a PD IFN γ si la respuesta promedio de todas las muestras en ese tumor tratado con J-19.H1 es mayor que el umbral de ruido de ese distintivo de IFN γ . Cada punto representa la puntuación de distintivo Keytruda de una muestra de tumor no tratado. Las líneas punteadas muestran la puntuación de distintivo Keytruda de referencia para las muestras que se perfilaron en cada indicación. La puntuación de distintivo Keytruda de referencia es una condición necesaria pero insuficiente para la respuesta de PD IFN gamma al pembrolizumab en el histocultivo, lo cual es consistente con las observaciones clínicas informadas por otros, lo que sugiere la relevancia del modelo de histocultivo para los resultados clínicos.

La FIG. 34, panel izquierdo, es una tabla que muestra las puntuaciones de distintivos de IFN γ PD promedio calculadas para 18 tumores de cabeza y cuello en respuesta a J-19.h1, pembrolizumab, o J-19.H1 combinados con pembrolizumab. Las células destacadas en gris indican tumores para los cuales la respuesta al tratamiento es mayor que el umbral de ruido. Las filas con un asterisco al lado de ellas indican tumores para los cuales el J-19.h1 potencia la respuesta, es decir, la puntuación de distintivo de PD IFN γ en respuesta al J-19.H1 + pembrolizumab es mayor o igual a la puntuación en respuesta al pembrolizumab solo + 0,43 (el umbral de ruido para el distintivo PD IFN γ). Se hace referencia a los tumores que tuvieron respuesta potenciada con J-19.H1 como que tienen un «efecto combo» en el panel derecho. La FIG. 34, panel derecho, es una gráfica que muestra una comparación del contenido de macrófagos tumorales normalizados por indicación de tumores antes del tratamiento. La gráfica muestra el contenido de macrófagos de referencia de tumores que muestra un efecto de combinación en respuesta al J-19.H1 + pembrolizumab en comparación con aquellos que no muestran ninguna potenciación debido al J-19.H1. La comparación se hace para tumores en las 3 indicaciones: carcinoma de células renales, cáncer de pulmón y cáncer de cabeza y cuello. El contenido de macrófagos tumorales se calcula promediando la expresión de genes asociada con macrófagos en

muestras no tratadas y se normaliza dentro de cada indicación. La respuesta de PD IFN gamma al pembrolizumab en el histocultivo es potenciada por el J-19.H1 en muestras enriquecidas con macrófagos.

5 Ejemplo 20. Mutantes de anticuerpos

La región variable de cadena pesada de J-19.h1 se establece a continuación:

QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLNTYAMGVSWIRQPPGKALEWLAŞIWWNGNKYNNPSLKSR
LTVTKDTSKNQVLTMTNMDPVDATYYCAHSRIIR*FDYVMDAWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 53)

CDRH1, CDRH2 y CDRH3 se indican por medio del subrayado, en orden. La **R*** indica un residuo en CDRH3 que, cuando muta a alanina (J-19.h5), midió mayor afinidad para el LILRB2 en comparación con el J-19.h1. Esta medición se determinó usando un ForteBio Octet Red96. La variante se normalizó a 10 ug/mL y se cargó en un sensor de captura antihumano. El sensor cargado se humedeció luego en amortiguador de cinética para establecer una referencia y se sumergieron en pocillos que contienen LILRB2 en dos concentraciones de 50 nM y 5 nM, seguido por una etapa de disociación en el amortiguador. Los datos cinéticos se calcularon usando el software de análisis de datos ForteBio. Los resultados mostraron que J-19.h5 tiene una afinidad dos veces más alta para el LILRB2 en comparación con la versión no mutada del J-19.h1.

Se realizaron variantes adicionales del J-19.h1, en las que la arginina mutó a aspartato (J-19.h6) y glutamato (J-19.h7). Todas las variantes se produjeron de forma temporal en una línea celular de ovario de hámster chino y se purificaron usando amortiguador de citrato en un manipulador de líquidos automático. Se midió la afinidad para el LILRB2 exactamente como estaba previamente al J-19.h5. Los datos indicaron que estas dos variantes tienen incluso mayor afinidad al LILRB2 en comparación con el J-19.h1 y J-19.h5.

Las afinidades para los cuatro anticuerpos (J-19.h1, J-19.h5, J-19.h6 y J-19.h7) se confirmaron a través de la resonancia de plasmones superficiales (SPR) usando un Sensor Sierra Masa-2. Se capturaron los anticuerpos usando un chip antihumano en una concentración de 2 ug/mL. El LILRB2 fluyó en los anticuerpos capturados en siete concentraciones (65, 21,67, 7,22, 2,41, 0,802, 0,267, 0,089 nM). J-19.h5 y J-19.h6 se ejecutaron por triplicado, mientras que J-19.h7 y J-19.h1 se ejecutaron por duplicado. A continuación, se encuentra una tabla que describe la asociación, disociación y Kd de los cuatro anticuerpos.

Tabla 9. Mediciones de cinética de J-19.h1 y mayores mutantes de afinidad

Analito	Ligando	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)	Réplicas	Diferencia en veces con respecto a J-19.h1
LILRB2	J-19.h5	8,76E+05	1,15E-03	1,31E-09	3	1,91
	J-19.h6	8,25E+05	5,92E-04	7,18E-10	3	3,47
	J-19.h7	8,65E+05	7,88E-04	9,12E-10	2	2,73
	J-19.h1	7,05E+05	1,76E-03	2,49E-09	2	1

Tabla 10. Tabla de secuencias

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia
1	Cadena pesada J-11.h	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYILTGYWIEWVKQ RPGHGLEWIGEILPGSGSTNYNENFKGKATFTADTSSNTA YMQLSSLTTEDSAIYYCARAVLG YFDYWGQGTTTLTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTK TYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK
2	Cadena ligera J-11.h	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQK PGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDYTLTISSVQ AEDLALYYCHQHYSTYTFGGGTKLEIKRTVAAPS FIFPPS DEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSPVTKSFNRGEC
3	J-11.h V _H	QVQLQQSGAELMKPGASVKLSCKATGYILTGYWIEWVKQ RPGHGLEWIGEILPGSGSTNYNENFKGKATFTADTSSNTA YMQLSSLTTEDSAIYYCARAVLG YFDYWGQGTTTLTVSS

4	J-11.h V _L	DIVMTQSHKFMSTSVGDRVSITCKASQDVSTAVAWYQQK PGQSPKLLIYWASTRHTGVPDRFTGSGSGTDYTLTISSVQ AEDLALYYCHQHYSTYTFGGGKLEIK
5	J-11.h CDR-H1	GYWIE
6	J-11.h CDR-H2	EILPGSGSTNYNENFKG
7	J-11.h CDR-H3	AVLGYFDY
8	J-11.h CDR-L1	KASQDVSTAVA
9	J-11.h CDR-L2	WASTRHT
10	J-11.h CDR-L3	HQHYSTYT
11	Cadena pesada J-19.h	QVTLKESGPGILQPSHTLSLTCSFSGFSLNTYAMGVSWIR QPSGKGLEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVSKDTSNN QAFLKVTSVDTADTATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGA SVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAP EFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
12	Cadena ligera J-19.h	DIQMTQSPASLSTFLGEPVTIECRASEDIYNDLAWYQQKP GKSPQLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQS EDVASYFCQQYYDYPLTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
13	J-19.h V _H	QVTLKESGPGILQPSHTLSLTCSFSGFSLNTYAMGVSWIR QPSGKGLEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVSKDTSNN QAFLKVTSVDTADTATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGA SVTVSS

14	J-19.h V _L	DIQMTQSPASLSTFLGEPVTIECRASEDIYNDLAWYQQKP GKSPQLLIYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQS EDVASYFCQQYYDYPLTFGSGTKLEIK
15	J-19.h CDR-H1	TYAMGVS
16	J-19.h CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
17	J-19.h CDR-H3	SRIIRFTDYVMDA
18	J-19.h CDR-L1	RASEDIYNDLA
19	J-19.h CDR-L2	NANSLHT
20	J-19.h CDR-L3	QQYYDYPLT
21	Cadena pesada J-17.h	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGLSWVKQT PGKGLKWMGWINTYSGVPTYTDDFKGRFAFSLETSASTA YLQINNLIKNEEDATYFCARPYDFDQVGFAYWGQGTTLTV SAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLK
22	Cadena ligera J-17.h	SIVMTQTPKFLLVSAGDRV/SITCKASQTVSSDVAWYQQKA GQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFFTISTVQA EDLAVYFCQQDYSSPFTFGGGSKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
23	J-17.h V _H	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTTYGLSWVKQT PGKGLKWMGWINTYSGVPTYTDDFKGRFAFSLETSASTA YLQINNLIKNEEDATYFCARPYDFDQVGFAYWGQGTTLTV SA

24	J-17.h V _L	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVSITCKASQTVSSDVAWYQQKA GQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFTGSGYGTDFTFTISTVQA EDLAVYFCQQDYSSPFTFGGGSKLEIK
25	J-17.h CDR-H1	TYGLS
26	J-17.h CDR-H2	WINTYSGVPTYTDDFKG
27	J-17.h CDR-H3	PYDFDQVGFA Y
28	J-17.h CDR-L1	KASQTVSSDVA
29	J-17.h CDR-L2	YASNRYT
30	J-17.h CDR-L3	QQDYSSPFT
31	Cadena pesada J-04	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFADYEIHWVKQ TPVHGLEWIGAIDPETGGTAYNQKFKGKAILTADKSSSTA YMELRSLTSEDSAVYYCTRYDYDDAMDYWGQGTSVTV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLG TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLGLK
32	Cadena ligera J-04	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVFMHWYQQKS GTSPKRWIYGTSKLAGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWNGNPFTFGSGTKLETKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGEC
33	J-04 V _H	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCASGYTFADYEIHWVKQ TPVHGLEWIGAIDPETGGTAYNQKFKGKAILTADKSSSTA YMELRSLTSEDSAVYYCTRYDYDDAMDYWGQGTSVTV SS

34	J-04 V _L	QIVLTQSPAIMASASPGEKVTMTCSASSSVSFMHWYQQKS GTSPKRWIYGTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWNGNPFTFGSGTKLETK
35	J-04 CDR-H1	DYEIH
36	J-04 CDR-H2	AIDPETGGTAYNQKFKG
37	J-04 CDR-H3	YYDYDDAMDY
38	J-04 CDR-L1	SASSSVSFMH
39	J-04 CDR-L2	GTSKLAS
40	J-04 CDR-L3	QQWNGNPFT
41	Cadena pesada J-03	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYKFTDYEMHWVK QTPVHGLEWIGAIIDPETNGTAYNKKFKGKAILTADKSSST AYMELRSLTSEDSAVYYCTRGDYDFSFAWFAYWGQGLV TVSAASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSL GTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEVQF NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEA LHNHYTQKSLSLGLGK
42	Cadena ligera J-03	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESDNYDISFMHWY QQKPGQPPKLLIYRASNLSESGIPARFSGSGSRTDFTLTINP VETDDVATYYCQQSNKDPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
43	J-03 V _H	QVQLQQSGAELVRPGASVTLSCKASGYKFTDYEMHWVK QTPVHGLEWIGAIIDPETNGTAYNKKFKGKAILTADKSSST AYMELRSLTSEDSAVYYCTRGDYDFSFAWFAYWGQGLV TVSA

44	J-03 V _L	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDNYDISFMHWY QQKPGQPPKLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINP VETDDVATYYCQQSNKDPRTFGGGTKLEIK
45	J-03 CDR-H1	DYEMH
46	J-03 CDR-H2	AIDPETNGTAYNKKFKG
47	J-03 CDR-H3	GDYDFSAWFAY
48	J-03 CDR-L1	RASESVDNYDISFMH
49	J-03 CDR-L2	RASNLES
50	J-03 CDR-L3	QQSNKDPRT
51	Cadena pesada J-19.h1	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
52	Cadena ligera J-19.h1	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITICRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
53	J-19.h1 V _H	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGTL VTVSS

54	J-19.h1 V _L	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGKLEIK
55	J-19.h1 CDR-H1	TYAMGVS
56	J-19.h1 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
57	J-19.h1 CDR-H3	SRIIRFTDYVMDA
58	J-19.h1 CDR-L1	RASEDIYNDLA
59	J-19.h1 CDR-L2	NANSLHT
60	J-19.h1 CDR-L3	QQYYDYPLT
61	Cadena pesada J-19.h2	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLMTNMDPVDATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
62	Cadena ligera J-19.h2	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTISTLQP EDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
63	J-19.h2 V _H	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLMTNMDPVDATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGTL VTVSS

64	J-19.h2 V _L	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTISTLQP EDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK
65	J-19.h2 CDR-H1	TYAMGVS
66	J-19.h2 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
67	J-19.h2 CDR-H3	SRIIRFTDYVMDA
68	J-19.h2 CDR-L1	RASEDIYNDLA
69	J-19.h2 CDR-L2	NANSLHT
70	J-19.h2 CDR-L3	QQYYDYPLT
71	Cadena pesada J-19.h3	QVTLKESGPSLVKPTQTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTITKDTSKNQ VVLKVTNMDPADTATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGT VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLGK
72	Cadena ligera J-19.h3	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTISTLQP EDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
73	J-19.h3 V _H	QVTLKESGPSLVKPTQTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTITKDTSKNQ VVLKVTNMDPADTATYYCAHSRIIRFTDYVMDAWGQGT VTVSS

74	J-19.h3 V _L	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTISTLQP EDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK
75	J-19.h3 CDR-H1	TYAMGVS
76	J-19.h3 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
77	J-19.h3 CDR-H3	SRIIRFTDYVMDA
78	J-19.h3 CDR-L1	RASEDIYNDA
79	J-19.h3 CDR-L2	NANSLHT
80	J-19.h3 CDR-L3	QQYYDYPLT
81	Cadena pesada J-19.h4	QVTLKESGPALVKPTH _L TLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTISKDTSKNQ VVL _T TMTNMDPEDTATFYCAHSRIIRFTDYVMDAWGRGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV _T VPSS SLG _T KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSV _L TVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YK _T TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSL _L SLGK
82	Cadena ligera J-19.h4	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTISTLQP EDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
83	J-19.h4 V _H	QVTLKESGPALVKPTH _L TLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTISKDTSKNQ VVL _T TMTNMDPEDTATFYCAHSRIIRFTDYVMDAWGRGTT VTVSS

84	J-19.h4 V _L	DIVMTQSPSSLSASVGDVTITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPQLLLYNANSLHTGVPSRFSGSGSGTDYTLTISTLQP EDFATYYCQQYYDYPLTFGPGTKVHIK
85	J-19.h4 CDR-H1	TYAMGVS
86	J-19.h4 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
87	J-19.h4 CDR-H3	SRIIRFTDYVMDA
88	J-19.h4 CDR-L1	RASEDIYNDLA
89	J-19.h4 CDR-L2	NANSLHT
90	J-19.h4 CDR-L3	QQYYDYPLT
91	Cadena pesada J-19.h5	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIAFTDYVMDAWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
92	Cadena ligera J-19.h5	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
93	J-19.h5 V _H	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIAFTDYVMDAWGQGTL VTVSS

94	J-19.h5 V _L	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGGTKLEIK
95	J-19.h5 CDR-H1	TYAMGVS
96	J-19.h5 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
97	J-19.h5 CDR-H3	SRIIAFTDYVMDA
98	J-19.h5 CDR-L1	RASEDIYNDLA
99	J-19.h5 CDR-L2	NANSLHT
100	J-19.h5 CDR-L3	QQYYDYPLT
101	Cadena pesada J-19.h6	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIDFTDYVMDAWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
102	Cadena ligera J-19.h6	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
103	J-19.h6 V _H	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNMDPVDATYYCAHSRIIDFTDYVMDAWGQGTL VTVSS

104	J-19.h6 V _L	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGGTKLEIK
105	J-19.h6 CDR-H1	TYAMGVS
106	J-19.h6 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
107	J-19.h6 CDR-H3	SRIIDFTDYVMDA
108	J-19.h6 CDR-L1	RASEDIYNDLA
109	J-19.h6 CDR-L2	NANSLHT
110	J-19.h6 CDR-L3	QQYYDYPLT
111	Cadena pesada J-19.h7	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNTNMDPVDATYYCAHSRIEFTDYVMDAWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPE FLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLGLK
112	Cadena ligera J-19.h7	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
113	J-19.h7 V _H	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLNTYAMGVSWIR QPPGKALEWLASIWWNGNKYNNPSLKSRLTVTKDTSKNQ VVLTMNTNMDPVDATYYCAHSRIEFTDYVMDAWGQGTL VTVSS

114	J-19.h7 V _L	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVITITCRASEDIYNDLAWYQQKP GKAPKLLIYNANSLHTGVASRFSGSGSGTDFTFTISSLQPE DVATYFCQQYYDYPLTFGQGTKLEIK
115	J-19.h7 CDR-H1	TYAMGVS
116	J-19.h7 CDR-H2	SIWWNGNKYNNPSLKS
117	J-19.h7 CDR-H3	SRIIEFTDYVMDA
118	J-19.h7 CDR-L1	RASEDIYNDLA
119	J-19.h7 CDR-L2	NANSLHT
120	J-19.h7 CDR-L3	QQYYDYPLT

SEQ NO:	ID	Proteína	N.º de acc.	Secuencia
121	LILRA1	O75019	MTPIVTVLICLRSLGPRTHVQAGTLPKPTLWAEPGSVITQ GSPVTLWCQGILETQEYRLYREKKTAPWITRIPQEIVKKG QFPIPSITWEHTGRYRCFYGSHTAGWSEPSDPLELVVTG AYIKPTLSALPSPVVTSGGNVTLHCVSQVAFGSFILCKEKE DEHPQCLNSQPRTHGWSRAIFSVGPVSPSRRWSYRCYA YDSNSPHVWSLPSDLLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPG ESLTLQCVSDVSYDRFVLYKEGERDFLQLPGPQPQAGLS QANFTLGPVSRSYGGQYRCSGAYNLSSEWSAPSDPLDILI AGQFRGRPFISVHPGPTVASGENVTLLCQSWGPFHTFLL TKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPV TSAHSGTYR CYGSLSSNPYLLSHPSDSLELMVSGAAETLSPPQNKSDS KAGAANTLSPSQNK TASHPQDYTVENLIRMGIAGLVLVVL GILLFEAQHSQRSL	
122	LILRA2	Q8N149	MTPILTVLICLGLSLGPRTHVQAGHLPKPTLWAEPGSVIIQ GSPVTLRCQGSLQAE EYHLYRENKSASWVRRIQEPGKN GQFPIPSITWEHAGRYHCQYYSHNHSSEYSDPLELVVTG AYSKPTLSALPSPVVTLGGNVTLQCVSQVAFDGFILCKEG EDEHPQRLNSHSHARGWSWAIFSVGPVSPSRRWSYRCY AYDSNSPYVWSLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPMVA PGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGERDFLQRPGWQPQA GLSQANFTLGPVSPSHGGQYRCYSAHNLSSEWSAPSDP	

			LDILITGQFYDRPSLSVQPVPTVAPGKNVTLLCQSRGQFH TFLLTKEGAGHPPLHLRSEHQAQQNQAEFRMGPV TSAHV GTYRCYSSLSSNPYLLSLPSDPLELVVSEAAETLSPSQNK TDSTTTSLGQHPQDYTVENLIRMGVAGLVVLVVLGILLFEAQ HSQRSLQDAAGR
123	LILRA3	Q8N6C8	MTPILTVLICLGLSLDPRTHVQAGPLPKPTLWAEPGSVITQ GSPVTLRCQGSLETQEYHLYREKKTALWITRIPQELVKKG QFPILSITWEHAGRYCCYGSHTAGLSESSDPLELVVTGAY SKPTLSALPSPVVTSGGNVTIQCD SQVAFDGFILCKEGED EHPQCLNSHSHARGSSRAIFSVGPVSPSRRWSYRCYGY DSRAPYVWSLPSDLLGLLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPG EKLTFCGSDAGYDRFVLYKEWGRDFLQRPGRQPQAGL SQANFTLGPVSRSYGGQYTC SGAYNLSSEWSAPSDPLDI LITGQIRARPFLSVRPGPTVASGENVTLLCQSQGGMHTFL LTKEGAADSPLRLKSKRQSHKYQAEFPMSPV TSAHAGTY RCYGSLSNPYLLTHPSDPLELVVSGAAETLSP PQNKSDS KAGE
124	LILRA4	P59901	MTLILTSLFFGLSLGPRTRVQAENLPKPILWAEPGPVITW HNPVTIWCQGTLEAQGYRLDKEGNSMSRHILKTLESENK VKLSIPSMMW E HAGRYHCYYQSPAGWSEPSDPLELVVT AYS RPTLSALPSPVVTSGVNVTLRCASRLGLGRFTLIEEG DHRLSWTLNSHQHNHGKFQALFPMGPLTFSNRGTFRCY GYENNTPYVWSEPSDPLQLLVSGVSRKPSLLTLQGPVVT PGENLTLQCGSDVG YIRYTYLYKEGADGLPQRPRQPQAG LSQANFTLSPVSRSYGGQYRCYGAHNVSSEWSAPSDPL DILIAGQISDRPSLSVQPGPTVTSGEKVTLLCQSWDPMFT FLLTKEGAAHPPLRLRSMYGAHKYQAEFPMSPV TSAHAG TYRCYGSRSSNPYLLSHPSEPLELVVSGATETLNPAQKKS DSKTAPHLQDYTVENLIRMGVAGLVLLFLGILLFEAQHSQR SPPRCSQEANSRKDNAPFRVVEPWEQI
125	LILRA5	A6NI73	MAPWSHPSAQLQPVGDAVSPALMVLLCLGLSLGPRTH VQAGNLSKATLWAEPGSVISRGNSVTIRCQGTLEAQEYRL VKEGSPEP WDTQNPLEPKNKARFSIPSMTEHHAGRYRCY YYSPAGWSEPSDPLELVVTGFYNKPTLSALPSPVVTSGE

			NVTLQCGSRLRFDRFILTEEGDHKLSWTLDSQLTPSGQF QALFPVGPVTPSHRWMLRCYGSRRHILQVWSEPSDLLEI PVSGAADNLSPSQNKSDSGTASHLQDYAVENLIRMG MAG LILVVLGILIFQDWHSQRSPQAAAGR
126	LILRA6	Q6PI73	MTPALTALLCLGLSLGPRTRVQAGPFPKPTLWAEPGSVIS WGSPVTIWCQGSLEAQEYQLDKEGSPEPLDRNNPLEPK NKARFSIPSMTQHHAGRYRCHYYSSAGWSEPSDPLELV MTGFYNKPTLSALPSPVVASGGNMTLRCSQKGYHHFVL MKEGEHQLPRTLDSQQ LHSGGFQALFPVGPVTPSHRWR FTCYYYTNTPRVWSHPSDPLEILPSGVSRKPSLLTLQGP VLAPGQSLTLQCGSDVGYDRFVLYKEGERDFLQRP GQQ PQAGLSQANFTLGPVSPSHGGQYRCYGAHNLSSEWSAP SDPLNILMAGQIYDTVSLSAQPGPTVASGENVTLLCQSRG YFDTFLLTKEGAHPPLRLRSMYGAHKYQAEFPMSPVTS AHAGTYRCYGSYSSNP HLLSFPSEPLELMVSGHSGGSSL PPTGPPSTPASHAKDYTVENLIRMG MAGLVLVFLGILLFEA QHSQRNPQDAAGR
127	LILRB1	Q8NHL6	MTPILTVLICLGLSLGPRT HVQAGHLPKPTLWAEPGSVITQ GSPVTLRCQGGQETQEYRLYREKKTALWITRIPQELVKKG QFPIPSITWEHAGRYRCYYGSDTAGRSESSDPLELVVTGA YIKPTLSAQSPV VNSGGNVILQCDSQVAFDGFSLCKEGE DEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPSRRWWYRCYA YDSNSPYEWSLPSDLLELLVLGVSKKPSLSVQPGPIVAPE ETLTLQCGSDAGYNRFVLYKDGERDFLQLAGAQPPAGLS QANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDIL IAGQFYDRVSLSVQPGPTVASGENVTLLCQSQGWMQTFL LTKEGAADDPWRLRSTYQSQKYQAEFPMGPVTS AHAGT YRCYGSQSSKP YLLTHPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGP TSTSGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVILLLL LLLLLFLILRHR RQGKHWSTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTD RGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKHTQPEDGVEMDTRSP HDEDPQAVTYAEVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDR QAEEDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSLTLRREATEPP PSQEGPSPAVPSIYATLAIH

128	LILRB2	Q8N423	MTPIVTVLICLGLSLGPRTHVQTGTIPKPTLWAEPDSVITQ GSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSSASWITRIRPELVKNG QFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLVMTGA YPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEG EEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCY GYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVA PGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQA GLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPL DILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTF LLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTY RCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVSGPSMGSSPPPTGPIS TPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVVLLLLL LLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTD RGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKDTQPEDGVEMDTRAA ASEAPQDVTYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIY ATLAIH
129	LILRB2	NP_0058 65.3	MTPIVTVLICLGLSLGPRTRVQTGTIPKPTLWAEPDSVITQ GSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSSASWITRIRPELVKNG QFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLVMTGA YPKPTLSAQSPVVTSGGRVTLQCESQVAFGGFILCKEG EDEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCY GYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVMA PGESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQA GLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSECSAPSDPL DILITGQIRGTPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTF LLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTY RCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVSGPSMGSSPPPTGPIS TPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLGRHLGVVIGILVAVVLLLLL LLLLFLILRHRRQGKHWTSTQRKADFQHPAGAVGPEPTD RGLQWRSSPAADAQEENLYAAVKDTQPEDGVEMDTRAA ASEAPQDVTYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEREPPAEPSIY ATLAIH
130	LILRB3	O75022	MTPALTALLCLGLSLGPRTRVQAGFPKPTLWAEPGSVIS WGSPVTIWCQGSQEAQEYRLHKEGSPEPLDRNNPLEPK

			NKARFSIPSMTEHHAGRYRCHYYSSAGWSEPSDPLEMV MTGAYSKPTLSALPSPVVASGGNMTLRCSQKGYHHFVL MKEGEHQLPRTLDSQQQLHSRGFQALFPVGPVTPSHRWR FTCYYYYTNTPWVWSHPSPLEILPSGVSRKPSLLTLQGP VLAPGQSLTLQCGSDVGYNRFVLYKEGERDFLQRPQQ PQAGLSQANFTLGPVSPSNGGQYRCYGAHNLSSEWSAP SDPLNILMAGQIYDTVSLSAQPGPTVASGENVTLLCQSW WQFDTFLLTKEGAHPPLRLRSMYGAHKYQAEFPMSPVT SAHAGTYRCYGSYSSNPHLLSHPSEPLELVSGHSGGSS LPPTGPPSTPGLGRYLEVLIGVSFAFVLLLFLLLRRQR HSKHRTSDQRKTDQRPAGAAETEPKDRGLLRRSSPAAD VQEENLYAAVKDTQSEDRVELDSQSPHDEDPQAVTYAPV KHSSPRREMASPPSSLSGEFLDTKDRQVEEDRQMDTEA AASEASQDVTYAQLHSLTLRRKATEPPPSQEGEPPAEP SIYATLAIH
131	LILRB4	Q8NHJ6	MIPTFTALLCLGLSLGPRTHMQAGPLPKPTLWAEPGSVIS WGNSTIWCQGTLEAREYRLDKEESPAPWDRQNPLEPK NKARFSIPSMTEYAGRYRCYRSPVGWSQPSDPLELVM TGAYSKPTLSALPSPLVTSGKSVTLLCQSRSPMDTFLLIKE RAAHPLLHLRSEHGAQQHQAEPFPMSPVTSVHGGTYRCF SSHGFSHYLLSHPSPLELIVSGSLEDPRPSPTRSVSTAA GPEDQPLMPTGSVPHSGLRRHWEVLIGVLVVSILLLSLLLF LLLQHWRRQGKHRTLAQRQADFQRPPGAAEPEPKDGGLQ RRSSPAADVQGENFCAAVKNTQPEDGVEMDTRQSPHDE DPQAVTYAKVKHSRPRREMASPPSPLSGEFLDTKDRQAE EDRQMDTEAAASEAPQDVTYAQLHSFTLRQKATEPPPSQ EGASPAEPSVYATLAIH
132	LILRB5	O75023	MTLTSLVLICLGLSVGPRTCVQAGTLPKPTLWAEPASVIAR GKPVTLCQGGPLETEEYRLDKEGLPWARKRQNPLEPGA KAKFHIPSTVYDSAGRYRCYYETPAGWSEPSDPLELVAT GFYAEPTLLALPSPVVASGGNVTLCQDGLDGLLTFVLVEE EQKLPRTLYSQKLPGKPSQALFPVGPVTPSCRWRFRYY YYRKNPQVWSNPDLLEILVPGVSRKPSLLIPQGSVARG GSLTLQCRSDVGYDIFVLYKEGEHDLVQGGSGQQPQAGLS

			QANFTLGPVSRSHGGQYRCYGAHNLSRWSAPSDPLDIL IAGLIPDIPALSVQPGPKVASGENVTLLCQSWHQIDTFFLT KEGAHPPLCLKSKYQSYRHQAEFMSMPVTSAQGGTYR CYSAIRSYPYLLSSPSYPQELVVSGPSGDPSLSPTGSTPT PGPEDQPLTPTGLDPQSGLGRHLGVVTGVSVAFVLLLFLL LFLLLRHRHQSKHRTSAHFYRPAGAAGPEPKDQGLQKRA SPVADIQEEILNAAVKDTQPKDGVEMDARAAASEAPQDVT YAQLHSLTLRREATEPPPSQEREPPEPSIYAPLAIH
133	Macaca fascicular is LILRB2 (putativo)	XP_0152 97203	MTPILMVLICLGLSLGPRTHVQAGILPKPTLWAEPGSVISE GSPVTLRCQGSQVQEYHLYREKNPASWVRQIRQELVKK GYFAIGFITWEHTGQYRCQYYSHSWWSEPSDPLELVVTG AYSKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDSQVAFDSFTLCKE GEDEHPQRLNCQSHARGWSWAVFSVGPVSPSRRWSYR CYGYISSAPNVWSLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVV APGDKLTLQCGSDAGYDRFALYKEGEGDFLQRPVRQPQ AGLSQANFLLGPVSRSHGGQYRCGSAHNLSSEWSAPSD PLDILIAGQIRGRPFLSVQPGPKVSGENVTLCCQSSWQF HAFLLTQAGAADAHLHLRSMYKYPKYQAEFPMSPVTSAH AGTYRCYGSRSSNPYLLSVPSDPLELVVSGPSGGPSSPT TGPTSTCAGPEDQPLTPTGSAPQSGLGRHLGVVTGVLVA FVLLLFLLLLLFLVLRYYRQGKRWTSARQKADFQHPAGAV EPEPRDRGLQRRSSPAADTQEENLYAAVKDTQPEDGVEL DSRAAASEDPQDVTYAQLQSLTLRREATEPPPSQERAPP VESSIYATLTIH
134	Macaca mulatta LILRBb (putativo)	Q110P6_ MACMU	GLSLGSRTRVQAGTLPKPTLWAEPDSVITQGSPTLRCQ GSLQVQEYRLYRERKPASWVRRIRQELVKKGYFAIGFITW EHTGQYHCQYYSHSWWPEPSDPLELVMTGAYSKPTLSA LPSPMVASGGNVTLQCDSQVAFDGFILCKEGEDEHPQRL NSHFHAYGWSRAVFSVGPVSPSRRWSYRCYGYDSRSPY VWSLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGDKLTLQ CGSDAGYNRFALYKEGEGNFLQHPGRQRQAGLSQANFL LGPVSRSHGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILIAGQIR GRPSLLVQPGRTVASGENVTLLCQSSWQFHVFLLTQAGA ADAHLHLRSMYKYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGS

			HSSDSYLLSVPSDPLELVVSGPSGGPSSPTTGPTSTCGP EDQPLTPTGSAPQSGLGRLGVVTGVLVAFVLLLFLLLLLF LVLRRHRRQGKRWTSAQRKADFQHPAGAVEPEPRDRGLQ RRSSPAANTQEENLYAAMKDTQPEDGVELDSQAAASED PQDVITYAQLQSLTLRRETTEPPPSQERAPPVESSIY
--	--	--	---

Otras modalidades

La descripción se puede presentar en otras formas específicas sin apartarse del espíritu o las características esenciales de esta. Las modalidades anteriores se consideran por ende ilustrativas en todo sentido y no limitantes de la descripción. En consecuencia, el alcance de la descripción está indicado por las reivindicaciones adjuntas y no por la descripción anterior, y se pretende que las reivindicaciones abarquen todos los cambios comprendidos por su significado y margen de equivalencia. Todas las referencias citadas en la presente se incorporan en su totalidad mediante esta referencia.

En el caso de una inconsistencia entre una secuencia en el listado de secuencias y una secuencia en la memoria descriptiva, debe considerarse que rige la secuencia en la memoria descriptiva