

ANTICUERPOS DE UNIÓN A ILT4

CAMPO

La presente solicitud se relaciona con anticuerpos que se unen específicamente a e
5 inhiben ILT4, y su uso en el tratamiento del cáncer.

ANTECEDENTES

10 ILT4 (transcripción tipo inmunoglobulina 4; también denominado LILRB2, LIR2, MIR10 y CD85d) se expresa en células mieloides, tales como monocitos, macrófagos y células dendríticas. ILT4 forma parte de una familia de receptores estructuralmente relacionados que también incluye las proteínas LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5, LILRA6, ILT2, ILT3, ILT5 y LIR8.

15 Los dominios extracelulares de proteínas de esta familia contienen varias repeticiones tipo inmunoglobulina, mientras que sus colas citoplásmicas contienen varios motivos inhibidores basados en tirosina (ITIM, por sus siglas en inglés), que captan tirosina fosfatasas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

20 La presente solicitud reivindica la prioridad para las solicitudes de patente provisionales de Estados Unidos que contienen al menos un dibujo de la lista a continuación ejecutado a color. Una vez que esta solicitud internaciona se publica y sus solicitudes provisionales de prioridad se vuelven disponibles al público, se asume que los dibujos a color se proporcionarán por la Oficina de Patentes y Marcas de Estados Unido a petición y pago la
25 tasa necesaria.

La Figura 1 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de la región variable de cadena pesada ("VH") del anticuerpo anti-hILT4 9G4, lo que indica la ubicación de las Cmdrs VH.

30 La Figura 2 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de la región variable de cadena ligera ("VL") del anticuerpo anti-hILT4 9G4, lo que indica la ubicación de las CDR VL.

La Figura 3 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VH del anticuerpo anti-hILT4 9C8, lo que indica la ubicación de las CDR VH.

5

10

15

20

25

30

35

La Figura 4 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VL del anticuerpo anti-hILT4 9C8, lo que indica la ubicación de las CDR VL.

La Figura 5 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VH del anticuerpo anti-hILT4 2H2, lo que indica la ubicación de las CDR VH.

La Figura 6 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VL del anticuerpo anti-hILT4 2H2, lo que indica la ubicación de las CDR VL.

La Figura 7 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VH del anticuerpo anti-hILT4 2E5, lo que indica la ubicación de las CDR VH.

La Figura 8 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VL del anticuerpo anti-hILT4 2E5, lo que indica la ubicación de las CDR VL.

La Figura 9 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VH del anticuerpo anti-hILT4 24E5, lo que indica la ubicación de las CDR VH.

La Figura 10 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VL del anticuerpo anti-hILT4 24E5, lo que indica la ubicación de las CDR VL.

La Figura 11 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VH del anticuerpo anti-hILT4 21D9, lo que indica la ubicación de las CDR VH.

La Figura 12 muestra las secuencias de nucleótidos y aminoácidos de VL del anticuerpo anti-hILT4 21D9, lo que indica la ubicación de las CDR VL.

Las Figuras 13A y 13C muestran alineaciones de las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de las cadenas pesadas (VH) (Fig. 13A) y ligeras (VL) (Fig. 13C) del anticuerpo ILT4 21D9 con secuencias de inmunoglobulina de línea germinal hIGHV3-23*01 e hIGKV3-20*01, respectivamente. Las flechas apuntan a las mutaciones de la línea germinal. Las secuencias AbM VH CDR1 y Kabat VH CDR2, VH CDR3, y VL CDR1-3 se muestran en texto claro. La Figura 13B muestra las secuencias de aminoácidos VH de los cuatro mutantes de reversión de línea germinal 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d y 21D9.e, con una región constante de cadena pesada IgG1.3 (es decir, 21D9.b-e hIgG1.3). Los residuos de aminoácido representados en mayúscula en la Figura 13B son sustituciones de reversión de línea germinal.

Las Figuras 14A y 14B muestran alineaciones de las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo ILT4 21A5 con secuencias de inmunoglobulina de línea germinal hIGHV1-46*01 (Fig. 14A) e hIGKV3-20*01 (Fig. 14B),

respectivamente. Las secuencias AbM VH CDR1 y Kabat VH CDR2, VH CDR3, y VL CDR1-3 se muestran en texto claro. Las flechas apuntan a las mutaciones de reversión de la línea germinal.

La Figura 15 muestra alineaciones de las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo ILT4 10F10 con secuencias de inmunoglobulina de línea germinal hIGHV3-30*01 (3 líneas superiores) e hIGKV1-13*02 (3 líneas inferiores), respectivamente. Las secuencias AbM VH CDR1 y Kabat VH CDR2, VH CDR3, y VL CDR1-3 se muestran en texto claro. Las flechas apuntan a las mutaciones de reversión de la línea germinal.

La Figura 16 muestra sensogramas de unión de los anticuerpos anti-hILT4 indicados a hILT4. Se muestra un esquema del método utilizado encima de los paneles de sensogramas.

La Figura 17 muestra la unión de anticuerpos anti-hILT4 2H2, 10F10 tipo silvestre (WT, es decir, anticuerpo original), 21A5.a, 21A5 WT, 21D9 WT, 21D9e y control de isotipo hIgG1.3 a hILT4 células CHO transfectadas, en función de la concentración de anticuerpo, y como se determina mediante citometría de flujo. Los valores EC_{50} se proporcionan más adelante como una gráfica de los datos de unión.

La Figura 18A muestra la unión de los anticuerpos anti-hILT4 indicados y los controles de isotipo a células CHO transfectadas con hILT4, en función de la concentración de anticuerpo, y como se determina mediante citometría de flujo. Los valores EC_{50} se proporcionan a la derecha de la gráfica de los datos de unión. La Figura 18B muestra la unión de anticuerpos anti-hILT4 a monocitos humanos aislados de sangre periférica de un donante sano normal. Las especies de anticuerpo se listan próximo a la gráfica y los valores de EC_{50} se proporcionan en las tablas inmediatamente después de la gráfica.

La Figura 19A muestra diagramas de citometría de flujo de unión de anticuerpos anti-hILT4 21D9, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10 y 2H2 (izquierda a derecha) a LILRA1 humano, LILRA2 humano, LILRA3 humano, LILRA4 humano, LILRA5 humano, LILRA6 humano, ILT2 humano, ILT3 humano, ILT4 humano, ILT5 humano y LIR8 humano (de arriba hacia abajo). La Figura 19B muestra diagramas de citometría de flujo de unión de anticuerpos anti-hILT4 21A5 y mutante de reversión de línea germinal 21A5.a a LIRA1, LIRA3 e ILT4 humanos.

Las Figuras 20A y B muestran el porcentaje de unión máxima de los anticuerpos indicados 21D9 ("21D9 IgG1.1") y 21D9.e (Fig. 20A) y 21A5 ("21A5WT") y 21A5.a (Fig. 20B) a

los miembros de la familia LILRA/LILRB humanos indicados, LILRA5, ILT4 en la Fig. 20A y LILRA1, LILRA3, e ILT4 en la Fig. 20B, en función de la concentración de anticuerpo, lo que indica que los anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5 y 21A5.a muestran reactividad cruzada débil con otros miembros de la familia LILRA.

Las Figuras 21A-D muestran la actividad de linfocitos T de anticuerpos anti-hILT4. La Figura 21A es un histograma de incorporación de ^3H thimidina de linfocitos T co-cultivados con células CHO transfectadas con hILT4 y OKT3 incubado sin (de izquierda a derecha en el eje x) anticuerpo, anticuerpo hlgG1.3 de control de isotipo, y anticuerpos 21D9 ("21D9 WT"), 21D9.e, 21A5 ("21A5 WT"), 21A5.a y 10F10 ("10F10 WT") en función de la concentración de anticuerpo (20, 4, 0.8, 0.16, 0.032 y 0.0064 $\mu\text{g/ml}$). La Figura 21B proporciona los valores de EC50 asociados. La Figura 21C muestra la actividad de linfocitos T de anticuerpos anti-hILT4. La Figura 21C es un histograma de producción de IFN γ de linfocitos T co-cultivados con células CHO transfectadas con hILT4 y OKT3 incubado sin (de izquierda a derecha en el eje x) anticuerpo, anticuerpo hlgG1.3 de control de isotipo, y anticuerpos 21D9 ("21D9 WT"), 21D9.e, 21A5 ("21A5 WT"), 21A5.a y 10F10 ("10F10 WT") en función de la concentración de anticuerpo (20, 4, 0.8, 0.16, 0.032 y 0.0064 $\mu\text{g/ml}$). La Figura 21D proporciona los valores de EC50 asociados.

Las Figuras 22A-D muestran la proliferación (Figuras 22A y 22C) y la producción de IFN γ (Figuras 22B y 22D) de linfocitos T en una allo-MLR (reacción mixta de linfocitos) de células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC) cultivadas conjuntamente con linfocitos T. El anticuerpo anti-hILT4 21A5.a o 21D9.e (Figuras 22A y 22B) o 2H2 o 21D9 (Figuras 22C y 22D), o control de isotipo o sin anticuerpo ("no tratado") se agregaron durante la diferenciación de monocitos a MoDC y cada anticuerpo no se agregó durante el ensayo de allo-MLR.

Las Figuras 23A-D muestran los niveles de expresión de CD83 y CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC). Los anticuerpos anti-hILT4 21D9.e, 21A5.a (Figura 23A), 21A5, 10F10, 21D9 (Figura 23B) o 2H2 (Figuras 23C y 23D) o control de isotipo se incubaron durante la diferenciación de monocitos a MoDC o se dejar sin tratamiento (sin anticuerpo).

Las Figuras 24A y B muestran el nivel de TNF-alpha secretado de macrófagos diferenciados in vitro activados por lipopolisacárido (LPS) (Figura 24A) o agonista STING 2'3'-cGAMP (Figura 24B). Los anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 2H2 y 10F10 o control de isotipo se incluyeron durante la activación.

Las Figuras 25A y B muestran el porcentaje de proliferación de linfocitos T CD4 (Figura 25A) y la cantidad de IFN-gamma (Figura 25B) producida a partir de la allo-MLR de linfocitos T CD4 cultivados conjuntamente con macrófagos diferenciados in vitro en presencia de anticuerpos anti-hILT4 21D9, 21D9.e, 21A5 o 21A5.a o anticuerpo anti-PD-L1 o anticuerpo de control de isotipo. La Figura 25A muestra el porcentaje de proliferación de linfocitos T CD4 mediante análisis FACS en función de la dilución de CFSE, y la Figura 25B muestra la producción de IFN γ medida mediante Alphascreen, en función de los anticuerpos ILT4 o los controles.

Las Figuras 26A y B muestran que la combinación del anticuerpo anti-ILT4 21D9 con el clon de anticuerpo anti-PD-L1 29E.2A3 fomenta la producción de IFN γ hasta un nivel mayor que con respecto a cada anticuerpo solo en una allo-MLR de macrófago: linfocitos T CD4. La Figura 26A muestra un experimento de un par alógeno de macrófago: linfocito T CD4. La Figura 26B muestra las respuestas de múltiples pares alógenos, donde cada línea indica un experimento de un par alógeno. Los análisis estadísticos se realizaron usando la comparación múltiple de Anova unidireccional no paramétrica (prueba de Friedman). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

Las Figuras 27A, B y C muestran el mapeo de epítomos HDX de Abs anti-hILT4 21D9 y 2H2 Fabs. La Figura 27A muestra la cobertura de secuencia hILT4 mediante Pepsina. La Figura 27B muestra HDX diferencial de dos Fabs; y la Figura 27C muestra los epítomos HDX de los Fabs 21D9 y 2H2. De las porciones de secuencia delineadas en la figura, aquellas que están subrayadas tienen menos protección de HDX que aquellas que no están subrayadas, también como se indica a continuación en la figura. La Figura 27C muestra los epítomos HDX de los dos Fabs mapeados con la secuencia lineal de hILT4. El epítomo del anticuerpo 21D9 se muestra mediante un único subrayado. El epítomo del anticuerpo 2H2 se muestra en las partes de doble subrayado y subrayado sombreado de la secuencia.

Las Figuras 28A, B, C y D muestran la inhibición de la unión de hILT4 a HLA-A y HLA-B mediante los anticuerpos 21D9 (Fig. 28A), 2H2 (Fig. 28B), 10F10 (Fig. 28C) y 21A5 (Fig. 28D).

Las Figuras 29A-D muestran que 21D9e.IgG1.3 mejora la secreción tanto de IFN- γ como TNF- α por linfocitos T CD4 $^{+}$ y CD8 $^{+}$, como se determina por la tinción de IFN- γ y TNF- α intracelular. La Figura 29A muestra la secreción de IFN- γ en linfocitos T CD4 $^{+}$; La Figura 29B

muestra la secreción de TNF- α en linfocitos T CD4+; la Figura 29C muestra la secreción de IFN- γ en linfocitos T CD8+; y la Figura 29D muestra la secreción de TNF- α en linfocitos T CD8+.

La Figura 30 muestra que los anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21A5, 21D9 Fab mejoran la secreción de IFN- γ tras la estimulación de antígenos en un Emsayo de Lisado de CMV. Nivolumab se utilizó como un control positivo y la ausencia de anticuerpo ("no Ab") y control de isotipo se usaron como controles negativos. Las concentraciones de anticuerpos anti-ILT4 son, de izquierda a derecha: 0.00128; 0.0064; 0.032; 0.16; 0.8; 4; y 20 μ g/ml (una barra para cada concentración se muestra en el histograma). Los anticuerpos y controles se muestran de izquierda a derecha en el mismo orden como se muestra a la derecha del histograma (por ejemplo, "No Ab" corresponde a la barra a la izquierda y "Nivo" corresponde a la barra a la derecha).

La Figura 31 muestra que los anticuerpos anti-ILT4 2H2 y 21D9, ya sea como IgG1.1f o como Fab, mejoran la proliferación de linfocitos T (medida por incorporación de 3 H) en un monocito: T allo-MLR.

Las Figuras 32A-C muestran que los anticuerpos anti-ILT4 21D9e.IgG1.3 ("ILT4.8" en la figura) y 9G4.IgG1.3 ("ILT4.1") (ver Tabla 1 para la nomenclatura de anticuerpos) promueven la expresión de las moléculas coestimulantes CD86 (Fig. 32A) y CD80 (Fig. 32B) y el marcador de activación celular dentrítica CD83 (Fig. 32C) en células dentríticas derivadas de monocitos de cynomolgus *in vitro*. Cada anticuerpo se añadió durante la diferenciación de monocitos de cynomolgus a células dentríticas (DC) derivadas de monocitos.

Las Figuras 33A y B muestran el nivel de TNF-alfa secretado de macrófagos diferenciados *in vitro* activados por lipopolisacáridos (LPS) (FIG. 33A) o agonista de STING 2'3'cGAMP (FIG. 33B). Los anticuerpos anti-ILT4 21D9.e y 10F10.4 o control de isotipo se incluyeron durante la activación.

La Figura 34 muestra que el nivel de TNF-alfa secretado por macrófatos diferenciados *in vitro* incubados con 21D9.e en el contexto de IgG1, IgG4 o IgG1.3 es similar.

La Figura 35 muestra el porcentaje de monómero, especies de alto peso molecular (HMW) y especies de bajo peso molecular (LMW) de 21D9.e.IgG1.3 después de 0, 1, 2 y 3 meses a 25 °C o 40 °C. El monómero, especies de HMW y LMW corresponden a las porciones inferior, media y superior de cada una de las barras, respectivamente, en el

histograma.

La Figura 36 muestra el porcentaje de basófilos activados de un total de 8 donantes después de la incubación con 21D9e.IgG1.3 (“ILT4.8” en la figura), 21A5.a.IgG1.3 (“ILT4.9”), un anticuerpo de control de isotipo “anti-DT”, anti-FcεRI o N-formilmetionina-leucil-fenialanina (fMLP), que muestra una falta de activación de basófilos por 21D9e.IgG1.3 (ILT4.8) y 21A5.a.IgG1.3 (“ILT4.9”).

Las Figuras 37A-D muestran los resultados de los experimentos para determinar los epítomos de ciertos anticuerpos. Las Figuras 37A y B muestran los resultados del ensayo de competición (o bloqueo cruzado) de 2H2 (Fig. 37A) y 21D9 (Fig. 37B) por los anticuerpos 10F10 y 21A5 de hILT4 expresado en la superficie de células CHO. La Figura 37C es un diagrama que muestra una representación tridimensional de hILT4 con la ubicación de los dominios similares a Ig 1 y 2, e indicando las áreas de hILT4 a las cuales se unen los anticuerpos 21D9, 29A5, 2H2 y 10F10. La Figura 37D muestra una representación tridimensional adicional de hILT4 con la ubicación de dominios similares a Ig 1 y 2, e indicando las áreas de hILT4 a las cuales se unen los anticuerpos 21D9, 21A5, y 10F10.

RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

Determinadas realizaciones de la presente descripción se resumen en las reivindicaciones al final de la descripción. Por ejemplo, la presente descripción incluye las siguientes realizaciones, así como otras realizaciones descritas en secciones adicionales del texto y en las figuras y secuencias en la presente.

Realización 1: Un anticuerpo aislado que se une específicamente a ILT4 humano (hILT4 o ILT4), el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, y además comprende una o más de las siguientes características:

- unión específica a hILT4 (por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108, 109, 111, 112, o 119), por ejemplo, con una K_D de 10^{-8} M o menos, o de 10^{-9} M o menos;
- ausencia de unión específica a hILT2, hILT3, y/o hILT5;
- ausencia de unión específica a uno o más miembros de las familias LILRA y/o LILRB;
- estimula la activación de linfocitos T, por ejemplo, en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR), como se mide mediante el aumento de la proliferación de linfocitos

T o la secreción de IFN-gamma, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- estimula la diferenciación o activación de monocitos en macrófagos, por ejemplo, estimula la diferenciación de macrófagos en macrófagos proinflamatorios, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- promueve la expresión de CD83 y CD86 en células dendríticas inmaduras derivadas de monocito humano (Mo-iDC), por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- mejora la secreción de IFN- γ tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de citomegalovirus (CMV), por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- mejora la secreción de IFN- γ y TNF- α por linfocito T CD4+ y CD8+ T en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR) tras la estimulación de CD3, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- inhibe la unión de HLA-A y/o HLA-B a ILT4;
- se une a ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122) como se determina mediante intercambio de deuterio de hidrógeno (HDX), por ejemplo, como se muestra en un ensayo de HDX descrito en los Ejemplos;
- compite por la unión a hILT4 con un anticuerpo descrito en la presente;
- se une específicamente a un ILT4 cyno que comprende la SEQ ID NO: 118, por ejemplo, como se muestra en un ensayo de unión descrito en los Ejemplos;
- inhibe la unión de ILT4 humano (hILT4) a un auxiliar de unión de ILT4, tal como una molécula MHC clase I, tal como HLA-A y HLA-B (por ejemplo, inhibe la unión de hILT4 tanto a HLA-A como HLA-B);
- tiene un perfil de unión de HLA-A y HLA-B mostrado en la Fig. 28;
- promueve la polarización proinflamatoria de macrófagos hacia macrófagos M1;
- tiene un perfil de unión como se muestra en la Fig. 27;
- no induce (o desencadena) la activación de basófilos;
- se une a las siguientes regiones de hILT4: (i) ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121); (ii) ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122); o (iii)

¹⁵⁴ILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123) y/o

⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124), y, si se une a (i) o (ii), entonces opcionalmente, no se une significativamente a otras regiones del dominio extracelular de ILT4, tales como regiones o residuos ubicados en el extremo N al aminoácido I70, en donde la numeración de aminoácidos de hILT4 es aquella del hILT4 inmaduro (es decir, ILT4 que comprende su secuencia señal natural); e

- interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Lys43, Ile49, Thr50 y Arg51 de hILT4 maduro o interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Gly117, Val119, Try120, Leu134, Lys136, Gln149, Pro150, Ile159, Ser161, Val162, Gly163, Pro164, Pro167, His173, Try178, Pro183 y Tyr184 de hILT4 maduro o interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Glu42, Lys43, Gly76, Cys77, Leu88, Pro91, Pro183 y Tyr184 de hILT4 maduro, como se determina por impresión de huella de carbeno, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.

Realización 2: El anticuerpo aislado de la realización 1, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH del anticuerpo anti-ILT4 9G4 (SEQ ID Nos: 125-127), 9C8 (SEQ ID Nos: 131-133), 2H2 (SEQ ID Nos: 137-139), 2E5 (SEQ ID Nos: 143-145), 24E5 (SEQ ID Nos: 149-151), 21D9 (SEQ ID Nos: 155-157), 21A5 (SEQ ID Nos: 161-163), o 10F10 (SEQ ID Nos: 167-169).

Realización 3: El anticuerpo aislado de la realización 1 o 2, que comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL del anticuerpo anti-ILT4 9G4 (SEQ ID Nos: 128-130), 9C8 (SEQ ID Nos: 134-136), 2H2 (SEQ ID Nos: 140-142), 2E5 (SEQ ID Nos: 146-148), 24E5 (SEQ ID Nos: 152-154), 21D9 (SEQ ID Nos: 158-160), 21A5 (SEQ ID Nos: 164-166), o 10F10 (SEQ ID Nos: 170-172).

Realización 4: El anticuerpo aislado de la realización 2, en donde la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 VL del anticuerpo anti-ILT4 9G4 (SEQ ID Nos: 143-148), 24E5 (SEQ ID Nos: 149-154), 21D9 (SEQ ID Nos: 155-160), 21A5 (SEQ ID Nos: 161-166), o 10F10 (SEQ ID Nos: 167-172).

Realización 5: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-4, que comprende:

- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 9G4 (SEQ ID Nos: 125-127) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la

CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 9G4 (SEQ ID Nos: 128-130);

- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 9C8 (SEQ ID Nos: 131-133) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 9C8 (SEQ ID Nos: 134-136);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 2H2 (SEQ ID Nos: 137-139) y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 2H2 (SEQ ID Nos: 140-142);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 2E5 (SEQ ID Nos: 143-145) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 2E5 (SEQ ID Nos: 146-148);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 24E5 (SEQ ID Nos: 149-151) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 24E5 (SEQ ID Nos: 152-154);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9 (SEQ ID Nos: 155-157) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9 (SEQ ID Nos: 158-160);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.b (SEQ ID Nos: 155-157) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.b (SEQ ID Nos: 158-160);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.c (SEQ ID Nos: 155-157) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.c (SEQ ID Nos: 158-160);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.d (SEQ ID Nos: 155-157) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.d (SEQ ID Nos: 158-160);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.e (SEQ ID Nos: 155-157) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.e (SEQ ID Nos: 158-160);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21A5 (SEQ ID Nos: 161-163) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21A5 (SEQ ID Nos: 164-166);

- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21A5.a (SEQ ID Nos: 161-163) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21A5.a (SEQ ID Nos: 164-166);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10 (SEQ ID Nos: 167-169) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10 (SEQ ID Nos: 170-172);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10.1 (SEQ ID Nos: 167-169) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10.1 (SEQ ID Nos: 170-172);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10.3 (SEQ ID Nos: 167-169) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10.3 (SEQ ID Nos: 170-172); o
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10.4 (SEQ ID Nos: 167-169) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10.4 (SEQ ID Nos: 170-172).

Realización 6: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-5, en donde la cadena pesada del anticuerpo comprende un VH con una secuencia de aminoácidos al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos del VH de 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135), 9C8 (SEQ ID NO: 55), 2H2 (SEQ ID NO: 58), 2E5 (SEQ ID NO: 63), 24E5 (SEQ ID NO: 67), 21D9 (SEQ ID NO: 71), 21D9.b (SEQ ID NO: 74), 21D9.c (SEQ ID NO: 75), 21D9.d (SEQ ID NO: 78), 21D9.e (SEQ ID NO: 80), 21A5 (SEQ ID NO: 83), 21A5.a (SEQ ID NO: 87), 10F10 (SEQ ID NO: 91), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91).

Realización 7: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-6, en donde la cadena ligera del anticuerpo comprende un VL con una secuencia de aminoácidos al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% idéntica a la secuencia de aminoácidos del VL de 9G4 (SEQ ID NO: 50, aminoácidos 19-125), 9C8 (SEQ ID NO: 54), 2H2 (SEQ ID NO: 59), 2E5 (SEQ ID NO: 62), 24E5 (SEQ ID NO: 66), 21D9 (SEQ ID NO: 70), 21D9.b (SEQ ID NO: 70), 21D9.c (SEQ ID NO: 70), 21D9.d (SEQ ID NO: 70), 21D9.e (SEQ ID NO: 70), 21A5 (SEQ ID NO: 82), 21A5.a (SEQ ID NO: 86), 10F10 (SEQ ID NO: 90), 10F10.1 (SEQ ID NO: 94), 10F10.3 (SEQ ID NO: 96), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 114).

Realización 8: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-7, en donde la cadena pesada del anticuerpo comprende un VH con una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, o 5 sustituciones, sustituciones conservadoras o sustituciones de reversión de aminoácidos en comparación con la secuencia de aminoácidos del VH de 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135), 9C8 (SEQ ID NO: 55), 2H2 (SEQ ID NO: 58), 2E5 (SEQ ID NO: 63), 24E5 (SEQ ID NO: 67), 21D9 (SEQ ID NO: 71), 21D9.b (SEQ ID NO: 74), 21D9.c (SEQ ID NO: 75), 21D9.d (SEQ ID NO: 78), 21D9.e (SEQ ID NO: 80), 21A5 (SEQ ID NO: 83), 21A5.a (SEQ ID NO: 87), 10F10 (SEQ ID NO: 91), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91).

Realización 9: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-8, en donde la cadena ligera del anticuerpo comprende un VL con una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, o 5 sustituciones, sustituciones conservadoras o sustituciones de reversión de aminoácidos en comparación con la secuencia de aminoácidos del VL de 9G4 (SEQ ID NO: 50, aminoácidos 19-125), 9C8 (SEQ ID NO: 54), 2H2 (SEQ ID NO: 59), 2E5 (SEQ ID NO: 62), 24E5 (SEQ ID NO: 66), 21D9 (SEQ ID NO: 70), 21D9.b (SEQ ID NO: 70), 21D9.c (SEQ ID NO: 70), 21D9.d (SEQ ID NO: 70), 21D9.e (SEQ ID NO: 70), 21A5 (SEQ ID NO: 82), 21A5.a (SEQ ID NO: 86), 10F10 (SEQ ID NO: 90), 10F10.1 (SEQ ID NO: 94), 10F10.3 (SEQ ID NO: 96), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 114).

Realización 10: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-9, en donde la cadena pesada comprende el VH del anticuerpo anti-ILT4 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135), 9C8 (SEQ ID NO: 55), 2H2 (SEQ ID NO: 58), 2E5 (SEQ ID NO: 63), 24E5 (SEQ ID NO: 67), 21D9 (SEQ ID NO: 71), 21D9.b (SEQ ID NO: 74), 21D9.c (SEQ ID NO: 75), 21D9.d (SEQ ID NO: 78), 21D9.e (SEQ ID NO: 80), 21A5 (SEQ ID NO: 83), 21A5.a (SEQ ID NO: 87), 10F10 (SEQ ID NO: 91), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91).

Realización 11: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-10, en donde la cadena ligera comprende el VL del anticuerpo anti-ILT4 9G4 (SEQ ID NO: 50, aminoácidos 19-125), 9C8 (SEQ ID NO: 54), 2H2 (SEQ ID NO: 59), 2E5 (SEQ ID NO: 62), 24E5 (SEQ ID NO: 66), 21D9 (SEQ ID NO: 70), 21D9.b (SEQ ID NO: 70), 21D9.c (SEQ ID NO: 70), 21D9.d (SEQ ID NO: 70), 21D9.e (SEQ ID NO: 70), 21A5 (SEQ ID NO: 82), 21A5.a (SEQ ID NO: 86), 10F10 (SEQ ID NO: 90), 10F10.1 (SEQ ID NO: 94), 10F10.3 (SEQ ID NO: 96), o 10F10.4

(SEQ ID NO: 114).

Realización 12: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-11, que comprende el VH y VL del anticuerpo anti-ILT4 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135 y SEQ ID NO: 50, aminoácidos 19-125), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 54), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 59), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 62), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 66), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 70), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 70), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 70), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 70), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 70), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 82), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 86), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 90), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 94), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 96), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 114).

Realización 13: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-11, que comprende:

- un VH que comprende las CDR VH del VH de 9G4 (SEQ ID Nos: 125-127), y un VL que comprende las CDR VL de 9G4 (SEQ ID Nos: 128-130), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135 y SEQ ID NO: 50, aminoácidos 19-125);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 9C8 (SEQ ID Nos: 131-133), y un VL que comprende las CDR VL de 9C8 (SEQ ID Nos: 134-136), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 54);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 2H2 (SEQ ID Nos: 137-139), y un VL que comprende las CDR VL de 2H2 (SEQ ID Nos: 140-142), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 59);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 2E5 (SEQ ID Nos: 143-145), y un VL que comprende las CDR VL de 2E5 (SEQ ID Nos: 146-148), y las secuencias de

aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 62);

- un VH que comprende las CDR VH del VH de 24E5 (SEQ ID Nos: 149-151), y un VL que comprende las CDR VL de 24E5 (SEQ ID Nos: 152-154), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 66);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21D9 (SEQ ID Nos: 155-157), y un VL que comprende las CDR VL de 21D9 (SEQ ID Nos: 158-160), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21D9.b (SEQ ID Nos: 155-157), y un VL que comprende las CDR VL de 21D9.b (SEQ ID Nos: 158-160), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21D9.c (SEQ ID Nos: 155-157), y un VL que comprende las CDR VL de 21D9.c (SEQ ID Nos: 158-160), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21D9.d (SEQ ID Nos: 155-157), y un VL que comprende las CDR VL de 21D9.d (SEQ ID Nos: 158-160), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21D9.e (SEQ ID Nos: 155-157), y un VL que comprende las CDR VL de 21D9.e (SEQ ID Nos: 158-160), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 70);

- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21A5 (SEQ ID Nos: 161-163), y un VL que comprende las CDR VL de 21A5 (SEQ ID Nos: 164-166), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 82);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 21A5.a (SEQ ID Nos: 161-163), y un VL que comprende las CDR VL de 21A5.a (SEQ ID Nos: 164-166), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 86);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 10F10 (SEQ ID Nos: 167-169), y un VL que comprende las CDR VL de 10F10 (SEQ ID Nos: 170-172), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 90);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 10F10.1 (SEQ ID Nos: 167-169), y un VL que comprende las CDR VL de 10F10.1 (SEQ ID Nos: 170-172), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 94);
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 10F10.3 (SEQ ID Nos: 167-169), y un VL que comprende las CDR VL de 10F10.3 (SEQ ID Nos: 170-172), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 96); o
- un VH que comprende las CDR VH del VH de 10F10.4 (SEQ ID Nos: 167-169), y un VL que comprende las CDR VL de 10F10.4 (SEQ ID Nos: 170-172), y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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% idénticas con el VH y VL de 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 114).

Realización 14: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-13, que comprende:

- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 9G4 (SEQ ID NO: 51 residuos 20-135) y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 9G4 (SEQ ID NO: 50 residuos 19-125);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 9C8 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 54);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 2H2 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 59);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 2E5 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 62);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 24E5 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 66);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21D9 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21D9.b y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21D9.c y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21D9.d y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 70);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21D9.e y un VL que

comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 70);

- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21A5 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 82);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 21A5.a y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 86);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 10F10 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 90);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 10F10.1 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 94);
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 10F10.3 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 96); o
- un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de 10F10.4 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos del VL de 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 114).

Realización 15: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-14, que es un anticuerpo de IgG.

Realización 16: El anticuerpo aislado de la realización 15, que es un anticuerpo de IgG1, IgG2 o IgG4, en donde la IgG4 opcionalmente comprende una sustitución de S228P (numeración EU).

Realización 17: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-16, en donde el anticuerpo es un anticuerpo no efector.

Realización 18: El anticuerpo aislado de la realización 17, en donde la región constante de cadena pesada comprende 1, 2, 3, 4, o 5 mutaciones en una región constante de cadena pesada humana por lo demás tipo silvestre que reduce la función efectora del anticuerpo en comparación con el anticuerpo sin las 1, 2, 3, 4, o 5 mutaciones, pero, por lo demás, con la

misma secuencia de aminoácidos.

Realización 19: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-18, en donde la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada IgG1.3, una región constante de cadena pesada IgG1.1, o una región constante de cadena pesada IgG1 con una sustitución P238K (numeración EU), o una región constante de cadena pesada IgG1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID Nos: 98, 100, 102, 103, o 104.

Realización 20: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-16 o 19, en donde el anticuerpo tiene función efectora.

Realización 21: El anticuerpo aislado de la realización 20, en donde el anticuerpo es afucosilado (por ejemplo, un anticuerpo IgG1 afucosilado).

Realización 22: El anticuerpo aislado de la realización 20 o 21, en donde la región constante de cadena pesada comprende 1, 2, 3, 4, o 5 mutaciones en una región constante de cadena pesada humana por lo demás tipo silvestre que mejora la función efectora del anticuerpo en comparación con el anticuerpo sin las 1, 2, 3, 4, o 5 mutaciones, pero, por lo demás, con la misma secuencia de aminoácidos.

Realización 23: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-22, que comprende el HC del anticuerpo anti-ILT4 9G4, 9C8, 2H2, 2E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, en donde la región constante del HC es IgG1 (por ejemplo 9G4.IgG1, etc.), IgG1.3 (por ejemplo 9G4.IgG1.3, etc.), IgG1.1f (por ejemplo 9G4.IgG1.1f, etc.), IgG4 (por ejemplo, 9G4.IgG4, etc.), o IgG4 S228P (numeración EU) (por ejemplo, 9G4.IgG4_S228P).

Realización 24: El anticuerpo aislado de la realización 23, en donde el anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos de HC como sigue:

- IgG1, por ejemplo 9G4.IgG1, 9G4 (SEQ ID NO: 2), 9C8 (SEQ ID NO: 4), 2H2 (SEQ ID NO: 6), 2E5 (SEQ ID NO: 8), 24E5 (SEQ ID NO: 10), 21D9 (SEQ ID NO: 12), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 98), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 98), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 98), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 98), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 98), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 98), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98).

98),

- IgG1, por ejemplo 9G4.IgG1, 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 102), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 102), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 102), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 102), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 102), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 102), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 102), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 102), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 102), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 102), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 102), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 102), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102),
- IgG1.3 (por ejemplo 9G4.IgG1.3, etc.), 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 100), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 100), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 100), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 100), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 100), 21D9 ((i) SEQ ID NO: 113, o (ii) SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 100), 21D9.b (SEQ ID NO: 36), 21D9.c (SEQ ID NO: 38), 21D9.d (SEQ ID NO: 40), 21D9.e (SEQ ID NO: 13), 21A5 (SEQ ID NO: 15), 21A5.a (SEQ ID NO: 17), 10F10 (SEQ ID NO: 19), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 100), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 100), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 100);
- IgG1.1f (por ejemplo 9G4.IgG1.1f, etc.), 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 103), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 103), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 103), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 103), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 103), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 103), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 103), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 103), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 103), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 103), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 103), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 103), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103),
- IgG1fa.P238K (por ejemplo, 9G4.IgG1fa.P238K, etc.) 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 104), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 104), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 104), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 104), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 104), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 104),

21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 104), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 104), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 104), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 104), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 104), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 104), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), o

- IgG4 S228P (por ejemplo 9G4.IgG4 S228P, etc.), 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 179), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 179), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 179), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 179), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 179), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 179), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 179), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 179), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 179), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 179), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 179), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 179), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179).

Realización 25: El anticuerpo aislado de la realización 23, en donde el HC del anticuerpo tiene ausencia de un residuo lisina en el extremo C.

Realización 26: El anticuerpo aislado de la realización 23, en donde el HC del anticuerpo comprende la secuencia de aminoácidos de región constante de cadena pesada de cualquiera de las SEQ ID Nos: 98, 100, 102, 103, 104, o 179.

Realización 27: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-26, que comprende la LC del anticuerpo anti-ILT4 9G4, 9C8, 2H2, 2E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1, 10F10.3, o 10F10.4.

Realización 28: El anticuerpo aislado de la realización 27, en donde la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera Kappa humana.

Realización 29: El anticuerpo aislado de la realización 27, en donde la LC comprende la secuencia de: 9G4 (SEQ ID NO: 1), 9C8 (SEQ ID NO: 3), 2H2 (SEQ ID NO: 5), 2E5 (SEQ ID NO: 7), 24E5 (SEQ ID NO: 9), 21D9 (SEQ ID NO: 11), 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5 (SEQ ID NO: 14), 21A5.a (SEQ ID NO: 16), 10F10 (SEQ ID NO: 18), 10F10.1 (SEQ ID NO: 20), 10F10.3 (SEQ ID NO: 21), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 116).

Realización 30: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-29, que comprende la HC y LC del anticuerpo anti-ILT4 9G4, 9C8, 2H2, 2E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1, 10F10.3, o 10F10.4, en donde la
 5 región constante del HC es IgG1 (por ejemplo 9G4.IgG1, etc.), IgG1.3 (por ejemplo 9G4.IgG1.3, etc.), IgG1.1f (por ejemplo 9G4.IgG1.1f, etc.), IgG4 (por ejemplo, 9G4.IgG4, etc.), o IgG4 S228P (numeración EU) (por ejemplo, 9G4.IgG4_S228P).

Realización 31: El anticuerpo aislado de la realización 30, que comprende:

- una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 9G4 ((i) SEQ ID NO: 2, o (ii) SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 9G4 (SEQ ID NO: 1);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 9C8 ((i) SEQ ID NO: 4 o (ii) SEQ ID NOs: 55 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 9C8 (SEQ ID NO: 3);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 2H2 ((i) SEQ ID NO: 6 o (ii) SEQ ID NOs: 58 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 2H2 (SEQ ID NO: 5);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 2E5 ((i) SEQ ID NO: 8 o (ii) SEQ ID NOs: 63 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 2E5 (SEQ ID NO: 7);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 24E5 ((i) SEQ ID NO: 10 o (ii) SEQ ID NOs: 67 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 24E5 (SEQ ID NO: 9);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21D9 ((i) SEQ ID NO: 12 o 113, o (ii) SEQ ID NOs: 71 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9 (SEQ ID NO: 11);

- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21D9.b (SEQ ID NOs: 74 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.b (SEQ ID NO: 11);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21D9.c (SEQ ID NOs: 75 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.c (SEQ ID NO: 11);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21D9.d (SEQ ID NOs: 78 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.d (SEQ ID NO: 11);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21D9.e ((i) SEQ ID NO: 13, 176, 177, o 178; o (ii) SEQ ID NOs: 80 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.e (SEQ ID NO: 11);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21A5 ((i) SEQ ID NO: 15 o (ii) SEQ ID NOs: 83 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21A5 (SEQ ID NO: 14);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 21A5.a (i) SEQ ID NO: 17 o (ii) SEQ ID NOs: 87 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21A5.a (SEQ ID NO: 16);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10 ((i) SEQ ID NO: 19 o (ii) SEQ ID NOs: 91 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10 (SEQ ID NO: 18);
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10.1 (i) SEQ ID NO: 19 o (ii) SEQ ID NOs: 91 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos

de cadena ligera de 10F10.1 (SEQ ID NO: 20);

- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10.3 ((i) SEQ ID NO: 19 o (ii) SEQ ID NOs: 91 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10.3 (SEQ ID NO: 21); o
- una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10.4 ((i) SEQ ID NO: 19 o (ii) SEQ ID NOs: 91 y una de la SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179) y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10.4 (SEQ ID NO: 116).

Realización 32: Un anticuerpo aislado que se une específicamente a ILT4 humano, que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO: 11.

Realización 33: Un anticuerpo aislado que se une específicamente a ILT4 humano, que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO: 11.

Realización 34: Un anticuerpo aislado que se une específicamente a ILT4 humano, que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO: 11.

Realización 35: Un anticuerpo aislado que se une específicamente a ILT4 humano, que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 178 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de SEQ ID NO: 11.

Realización 36: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 32-35, en donde el anticuerpo tiene una o más de las propiedades de los anticuerpos de la realización 1.

Realización 37: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-36, que es un anticuerpo de longitud completa.

Realización 38: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-14, que es un fragmento de anticuerpo.

Realización 39: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-38, que es un anticuerpo multimérico (por ejemplo, dimérico o trimérico).

Realización 40: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-39, que está
5 enlazado (por ejemplo, covalentemente) con otra molécula.

Realización 41: El anticuerpo aislado de la realización 40, en donde la otra molécula es una etiqueta.

Realización 42: El anticuerpo aislado de la realización 40, en donde la otra molécula es un
10 péptido.

Realización 43: El anticuerpo aislado de la realización 40, que es un conjugado fármaco anticuerpo (ADC).

Realización 44: Un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-43.

Realización 45: Un ácido nucleico aislado que codifica la cadena pesada y/o la cadena
15 ligera de un anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-43.

Realización 46: Un conjunto de al menos dos ácidos nucleicos aislados que codifican la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-43.

Realización 47: Una composición que comprende un ácido nucleico que codifica la
20 cadena pesada de un anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-43 y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera del anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-43.

Realización 48: Una célula que comprende el ácido nucleico aislado de cualquiera de las realizaciones 44-46 o la composición de la realización 47.

Realización 49: Un método para preparar un anticuerpo, que comprende cultivar la célula
25 de la realización 48 en condiciones bajo las cuales se expresa el anticuerpo.

Realización 50: Una composición que comprende un anticuerpo aislado, ácido nucleico, composición o célula de cualquiera de las realizaciones 1-49 y un portador farmacéuticamente aceptable.

Realización 51: la composición de la realización 50, que comprende un segundo agente
30 terapéutico.

Realización 52: la composición de la realización 51, en donde el segundo agente terapéutico es un agente inmunoestimulante.

Realización 53: la composición de la realización 52, en donde el agente
35

inmunoestimulante es un antagonista de una molécula inmunosupresora, por ejemplo, la PD-1/PD-L1, un CTLA-4 y la G-3, o un agonista de una molécula inmunoestimulante, por ejemplo, GITR y OX40.

Realización 54: Un método para tratar un sujeto que tiene cáncer, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de cualquiera de las realizaciones 50-53 o anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-43 que estimula una respuesta inmunitaria y/o es un antagonista de ILT-4.

Realización 55: El método de la realización 54, en donde el método además comprende administrar una segunda terapia.

Realización 56: El método de la realización 55, en donde la segunda terapia es radioterapia, cirugía o administración de un segundo agente.

Realización 57: El método de la realización 55, en donde la segunda terapia es un segundo agente y el segundo agente es un agente inmunoestimulante.

Realización 58: El método de la realización 57, en donde el agente inmunoestimulante es un antagonista de una molécula inmunosupresora, por ejemplo, la PD-1/PD-L1, una CTLA-4 y la G-3, o un agonista de una molécula inmunoestimulante, por ejemplo, GITR y OX40.

Realización 60: Un método para tratar una enfermedad infecciosa (por ejemplo, enfermedad viral) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de cualquiera de las realizaciones 50-53 o anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-43 que estimula una respuesta inmunitaria y/o es un antagonista de ILT4.

Realización 61: Un método para detectar ILT4 en una muestra, que comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo de ILT4 de cualquiera de las realizaciones 1-43.

Realización 62: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-43, que tiene las siguientes características:

- a. unión específica a hILT4 (por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108, 109, 111, 112, o 119), por ejemplo, con una K_D de 10^{-8} M o menos, o de 10^{-9} M o menos;
- b. estimula la diferenciación o activación de monocitos en macrófagos, por ejemplo, estimula la diferenciación de macrófagos en macrófagos proinflamatorios, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- c. tiene un perfil de unión como se muestra en la Fig. 27; y
- d. se une a los dominios similares a Ig 1, 2 o 1 y 2 de hILT4, tal como que comprende las siguientes regiones de hILT4: (i) ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121); (ii) ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122); o (iii) ¹⁵⁴ILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123) y/o ⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124), y no se une significativamente a otras regiones del dominio extracelular de ILT4, tales como regiones o residuos que se ubican en el extremo N al aminoácido 170, en donde la numeración de aminoácidos de hILT4 es aquella del hILT4 inmaduro (es decir, ILT4 que comprende su secuencia señal natural).

Realización 63: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-43, que tiene las siguientes características:

- a. unión específica a hILT4 (por ejemplo, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 108, 109, 111, 112, o 119), por ejemplo, con una K_D de 10^{-8} M o menos, o de 10^{-9} M o menos;
- b. ausencia de unión específica a hILT2, hILT3, y/o hILT5;
- c. ausencia de unión específica a uno o más miembros de las familias LILRA y/o LILRB;
- d. estimula la activación de linfocitos T, por ejemplo, en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR), como se mide mediante el aumento de la proliferación de linfocitos T o la secreción de IFN-gamma, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- e. estimula la diferenciación o activación de monocitos en macrófagos, por ejemplo, estimula la diferenciación de macrófagos en macrófagos proinflamatorios, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- f. inhibe la unión de hILT4 a HLA-A y HLA-B;
- g. tiene un perfil de unión como se muestra en la Fig. 27;
- h. se une a los dominios similares a Ig 1, 2 o 1 y 2 de hILT4, tal como que comprende las siguientes regiones de hILT4: (i) ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121); (ii) ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122), y no se une significativamente a otras regiones del dominio extracelular de ILT4, tales como

regiones o residuos que se ubican en el extremo N al aminoácido I70; en donde la numeración de aminoácidos de hILT4 es aquella del hILT4 inmaduro (es decir, ILT4 con su secuencia señal).

- i. promueve la polarización proinflamatoria de macrófagos hacia macrófagos M1;
- j. no induce (o desencadena) la activación de basófilos; y
- k. comprende menos de 5% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 25°C y/o menos de 10% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 40°C.

Realización 64: El anticuerpo aislado de cualquiera de las realizaciones 1-43, que tiene las siguientes características:

- a. promueve la expresión de CD83 y CD86 en células dendríticas inmaduras derivadas de monocito humano (Mo-iDC), por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- b. mejora la secreción de IFN- γ tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de citomegalovirus (CMV), por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- c. mejora la secreción de IFN- γ y TNF- α por linfocito T CD4+ y CD8+ T en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR) tras la estimulación de CD3, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;
- d. inhibe la unión de HLA-A y/o HLA-B a ILT4;
- e. se une a dominios similares a Ig 1, 2 o 1 y 2 de hILT4, tal como a una región que comprende (i) ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121); (ii) ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122); o (iii) ¹⁵⁴ILCKEGEEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123) y/o ⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124), como se determina mediante intercambio de deuterio de hidrógeno (HDX), por ejemplo, como se muestra en un ensayo de HDX descrito en los Ejemplos;
- f. interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Lys43, Ile49, Thr50 y Arg51 de hILT4 maduro o interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Gly117, Val119, Try120, Leu134, Lys136, Gln149, Pro150, Ile159, Ser161, Val162, Gly163,

Pro164, Pro167, His173, Try178, Pro183 y Tyr184 de hILT4 maduro o interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Glu42, Lys43, Gly76, Cys77, Leu88, Pro91, Pro183 y Tyr184 de hILT4 maduro, como se determina por impresión de huella de carbeno, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos;

- g. compite por la unión a hILT4 con un anticuerpo descrito en la presente; y
- h. se une específicamente a un ILT4 cyno que comprende la SEQ ID NO: 118, por ejemplo, como se muestra en un ensayo de unión descrito en los Ejemplos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE DETERMINADAS REALIZACIONES

Definiciones

A menos que se definan de otro modo, los términos científicos y técnicos usados en conexión con la presente invención tendrán los significados comúnmente aceptados por los expertos en la técnica. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos en singular incluyen el plural y los términos en plural incluyen el singular.

En esta solicitud, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. En el contexto de una reivindicación dependiente múltiple, el uso de "o" se refiere a más de una reivindicación independiente o dependiente precedente solo alternativamente. En la presente, las expresiones "que comprende", "que incluye" y "que tiene" se pueden utilizar de modo intercambiable. De acuerdo con la presente invención, una molécula "aislada" es una molécula que ha sido extraída de su entorno natural. Como tal, el término "aislada" no refleja necesariamente el grado en que la molécula ha sido purificada.

El término "polipéptido" se refiere a un polímero de residuos aminoácidos, y no está limitado a una longitud mínima. Una "proteína" puede comprender uno o más polipéptidos. Dichos polímeros de residuos aminoácidos pueden contener residuos aminoácidos naturales o no naturales, e incluir, entre otros, péptidos, oligopéptidos, dímeros, trímeros y multímeros de residuos aminoácidos. La definición abarca tanto proteínas de longitud completa como sus fragmentos. Los términos también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación, fosforilación, y otras similares. Además, a los fines de la presente invención, un "polipéptido" o una "proteína" se refiere a un polipéptido o una proteína, respectivamente, lo que incluye las modificaciones, tales como, delecciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservativa), a la

secuencia nativa, en tanto que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, tal como la mutagénesis de sitio dirigido, o pueden ser accidentales, tales como a través de mutaciones de hospederos que producen las proteínas, o a errores debidos a la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés). Una proteína puede comprender uno o más polipéptidos. La letra “h” delante de un nombre de proteína indica una proteína humana natural en la presente, por ejemplo, “hILT4”.

Las expresiones “ILT4”, “ILT4 humano”, “hILT4”, “transcripción tipo inmunoglobulina 4”, “transcripción tipo Ig 4”, “receptor tipo inmunoglobulina de leucocito B2”, “LIR2”, “LILRB2”, “MIR10” y “CD85d” se usan de manera indistinta y se refieren a un ILT4 humano natural, a menos que se indique específicamente de otro modo (por ejemplo, ILT4 de ratón, ILT4 cynomolgus, etc.). El término incluye ILT4 de longitud completa, no procesada, así como cualquier forma de ILT4 que resulte del procesamiento en la célula. El término abarca las variantes de ILT4 humano de origen natural, por ejemplo, variantes de empalme o variantes alélicas. En algunas realizaciones, ILT4 comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 107 (precursor, con péptido señal) o la SEQ ID NO: 108 (madura, sin péptido señal). En algunas realizaciones, ILT4 comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 110 (precursor, con péptido señal) o la SEQ ID NO: 111 (madura, sin péptido señal).

Como se usa en la presente, la expresión “fragmento de ILT4” se refiere a ILT4 con uno o más residuos eliminados del extremo N y/o C de ILT4 de longitud completa. El fragmento de ILT4 puede incluir o no un péptido señal de extremo N pero que conserva la capacidad de unirse a linfocitos T. Como se usa en la presente, la expresión “variante de ILT4” se refiere a ILT4 que contiene adiciones, eliminaciones y sustituciones de aminoácidos de origen natural pero que conserva la capacidad de unirse a linfocitos T.

El término “antagonista” se utiliza en el sentido más amplio e incluye cualquier molécula que inhibe o neutraliza, parcial o totalmente, la actividad biológica de un polipéptido, tal como ILT4. Ejemplos de moléculas antagonistas incluyen anticuerpos antagonistas. La expresión “antagonista de ILT4” se refiere a una molécula que inhibe o bloquea la actividad biológica de ILT4 mediante, por ejemplo, bloqueo o inhibición de la interacción entre ILT4 y una célula diana, por ejemplo, un linfocito T y/o una molécula diana. Ejemplos de antagonistas de ILT4

incluyen anticuerpos que bloquean la unión de ILT4 a una célula diana, por ejemplo, un linfocito T y/o una molécula diana. Se considera que un antagonista de ILT4 “bloquea la unión de ILT4 a células diana o moléculas diana” cuando reduce la cantidad de unión detectable a al menos uno de ILT4 a una célula diana, por ejemplo, un linfocito T y/o una molécula diana en al menos 50 % en un ensayo de unión celular. En algunas realizaciones, un antagonista de ILT4 reduce la cantidad de unión detectable en al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 % o al menos 90 %. En algunas de dichas realizaciones, se cree que el antagonista bloquea la unión del ligando en al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, etc. El bloqueo de la unión de ILT4 a células diana, por ejemplo, linfocitos T, puede demostrarse, por ejemplo, mediante la unión de las células transfectadas con ILT4, por ejemplo, ILT4 ECD y dominio transmembrana, o proteína de fusión Fc ILT4 recombinante, por ejemplo, proteínas de fusión Fc ILT4 ECD recombinantes, tales como linfocitos T, en presencia o ausencia del antagonista.

Los términos «inhibición» o «inhibir» hacen referencia a una disminución, reducción o cese de cualquier característica fenotípica o a la disminución, reducción o cese de la incidencia, grado o probabilidad de dicha característica. En algunas realizaciones, «reducir» o «inhibir» significa la capacidad de causar una disminución de 20 % o más. En otra realización, «reducir» o «inhibir» significa la capacidad de causar una disminución de 50 % o más. En aun otra realización, «reducir» o «inhibir» significa la capacidad de causar una disminución general de 75 %, 85 %, 90 %, 95 % o más.

Las expresiones “fomentar la actividad de linfocitos T” o “fomento de la actividad de linfocitos T” se refieren al fomento o aumento de al menos uno de activación de linfocitos T, secreción de citocinas, tal como secreción de interferón-gamma (IFN- γ) o proliferación de linfocitos T en un sujeto. El “fomento de la actividad de linfocitos T” se puede llevar a cabo mediante el uso de un agente que es un agonista de la actividad de linfocitos T, y/o un agente que es un antagonista de (es decir, inhibe o bloquea) un mecanismo que inhibe la actividad de linfocitos T. Los cambios en la actividad de linfocitos T puede medirse mediante, por ejemplo, un ensayo de proliferación de linfocitos T o un ELISA IFN- γ , por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.

Las expresiones “anticuerpo ILT4” o “anticuerpo hILT4” o “anticuerpo anti-ILT4” o “anticuerpo anti-hILT4” o “anticuerpo que se une a ILT4,” como se usa en la presente, se refieren a un anticuerpo que se une a ILT4 y que inhibe opcionalmente la actividad biológica

de ILT4, tal como mediante el bloqueo o la inhibición de la unión de ILT4 a células diana, tales como linfocitos T, o molécula diana. En algunas realizaciones, el alcance de la unión de un anticuerpo ILT4 a una proteína no-ILT4 no relacionada es inferior a alrededor de 10 % de la unión del anticuerpo a ILT4 tal como se midió, por ejemplo, mediante SPR (Biacore®) o en un radioinmunoensayo (RIA). En algunas realizaciones, el alcance de la unión de un anticuerpo ILT4 a otras proteínas de la familia ILT, tal como LILRA es inferior a 20 %, inferior a 10 %, inferior a 5 % de la unión del anticuerpo a ILT4 tal como se midió, por ejemplo, mediante SPR o en un radioinmunoensayo (RIA). En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se une a ILT4 pero no se une a al menos una proteína que se selecciona de ILT2, ILT3 e ILT5.

La expresión "péptido líder" o "secuencia señal" o "péptido señal" o "secuencia líder" se refiere a un péptido o secuencia de residuos de aminoácidos ubicados en el extremo N terminal de un polipéptido que facilita la secreción de un polipéptido desde una célula de mamífero. Una secuencia líder se puede escindir luego de exportar el polipéptido desde la célula de mamífero, formando una proteína madura. Las secuencias líder pueden ser naturales o sintéticas, y pueden ser heterólogas u homólogas a la proteína a la cual están unidas.

En la presente, el término "anticuerpo" o "Ab" se usa en su sentido más amplio y abarca diversas estructuras de anticuerpos, que incluyen, entre otros, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpos en tanto que estos exhiban la actividad de unión a antígeno deseada. Como se usa en la presente, el término se refiere a una molécula que comprende al menos la región determinante de complementariedad (CDR) 1, CDR2 y CDR3 de una cadena pesada y al menos CDR1, CDR2 y CDR3 de una cadena ligera, donde la molécula es capaz de unirse a antígeno. El término anticuerpo también incluye, entre otros, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos y anticuerpos de varias especies tales como murino, de mono cinomolgo, etc. El término "fragmento de anticuerpo" incluye, entre otros, fragmentos que son capaces de unirse a antígeno, tales como Fv, Fv monocatenario (scFv), Fab, Fab' y (Fab')₂.

La expresión "cadena pesada" o "HC" se refiere a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena pesada, con o sin una secuencia líder. En algunas realizaciones, una cadena pesada comprende al menos una porción de una región constante

de cadena pesada. La expresión "cadena pesada de longitud completa" se refiere a un polipéptido que comprende una región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada, con o sin una secuencia líder, y con o sin una lisina C-terminal (K). La expresión "cadena pesada de longitud completa madura" se refiere a un polipéptido que comprende una región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada, sin una secuencia líder, y con o sin una lisina de extremo C (K).

La expresión "región variable de cadena pesada" o "VH" se refiere a una región que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1 de cadena pesada, una región estructural (FR) 2, CDR2, FR3 y CDR3 de la cadena pesada. En algunas realizaciones, una región variable de cadena pesada también comprende al menos una porción de una FR1 y/o al menos una porción de una FR4. En algunas realizaciones, las CDR de cadena pesada son como se especifican en la presente, tal como en la tabla de secuencias a continuación o en las Figuras 1-12. Como se usa en la presente, las CDR1, CDR2 y CDR3 VH son CDR de Kabat, como se muestra en las Figuras 1-12, por ejemplo.

La expresión "cadena ligera" o "LC" se refiere a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena ligera, con o sin una secuencia líder. En algunas realizaciones, una cadena ligera comprende al menos una porción de una región constante de cadena ligera. La expresión "cadena ligera de longitud completa" se refiere a un polipéptido que comprende una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera, con o sin una secuencia líder. La expresión "cadena ligera de longitud completa madura" se refiere a un polipéptido que comprende una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera, sin una secuencia líder.

La expresión "región variable de cadena ligera" o "VL" se refiere a una región que comprende una CDR1, FR2, HVR2, FR3 y HVR3 de cadena ligera. En algunas realizaciones, una región variable de cadena ligera también comprende una FR1 y/o una FR4. En algunas realizaciones, las CDR de cadena ligera son como se especifican en la presente, tal como en la tabla de secuencias o en las Figuras 1-12. Como se usa en la presente, las CDR1, CDR2 y CDR3 VL son CDR de Kabat, como se muestra en las Figuras 1-12, por ejemplo.

Un "anticuerpo quimérico" se refiere a un anticuerpo en el cual una porción de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie particular, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie diferente. En algunas realizaciones,

un anticuerpo quimérico se refiere a un anticuerpo que comprende al menos una región variable de una primera especie (tal como ratón, rata, mono cinomolgo, etc.) y al menos una región constante de una segunda especie (tal como ser humano, mono cinomolgo, etc.). En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable murina y al menos una región constante humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable cinomolga y al menos una región constante humana. En algunas realizaciones, 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.

Un "anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo en el cual al menos un aminoácido en la región estructural de una región variable no humana ha sido reemplazado con el aminoácido correspondiente de una región variable humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado comprende al menos una región constante humana o un fragmento de esta. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado es un Fab, un scFv, un (Fab')₂, etc.

Un "anticuerpo humano", como se usa en la presente, se refiere a anticuerpos producidos en seres humanos, anticuerpos producidos en animales no humanos que comprenden genes de inmunoglobulina humana, tal como XenoMouse®, y anticuerpos seleccionados usando métodos in vitro, tal como despliegue en fagos, donde el repertorio de anticuerpos se basa en secuencias de una inmunoglobulina humana.

En algunas realizaciones, un anticuerpo en la presente puede contener una o más "sustituciones conservadoras", en comparación con una secuencia específica particular. Las "sustituciones de aminoácidos conservadoras" en la presente hacen referencia a sustituciones de un residuo de aminoácido con un residuo de aminoácido que tiene una cadena lateral similar. Las familias de residuos de aminoácidos que tiene cadenas laterales similares incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales plares no cargadas (por ejemplo, glicina, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano), cadenas laterales no polares (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales ramificadas en beta (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina,

fenilalanina, triptófano, histidina), En determinadas realizaciones, un residuo de aminoácido no esencial previsto en un anticuerpo en la presente se reemplaza con otro residuo de aminoácido de la misma familia de cadenas laterales (por ejemplo, básica, ácida, ramificada en beta, aromática, polar no cargada). Los métodos para identificar sustituciones conservadoras de aminoácidos y nucleótidos que no eliminan la unión a antígenos se han descrito, por ejemplo, en in Brummell et ál., *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi et ál. *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); y Burks et ál. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA* 94:412-417 (1997)).

En algunas realizaciones, un anticuerpo en la presente puede contener una o más "sustituciones de reversión". Se ilustran ejemplos en las Figuras 13-15 de la presente. Las sustituciones de reversión son mutaciones a una secuencia de aminoácidos de línea germinal a partir de la cual deriva una cadena pesada o cadena ligera del anticuerpo.

Una " K_D " o "constante de disociación" para la unión de un anticuerpo a una proteína, por ejemplo, ILT4 es una medida de la afinidad o la unión específica del anticuerpo a la proteína, por ejemplo, ILT4. Una K_D baja indica una unión o afinidad mejorada sobre una K_D alta. Una K_D está compuesta por una proporción entre una "tasa de disociación" o k_{off} o k_d y una "velocidad de asociación" o k_{on} o k_a para el anticuerpo y el polipéptido.

Las expresiones "uniéndose específicamente" o "que se une específicamente" o expresiones similares significan que la K_D para la unión de dos polipéptidos, tal como un anticuerpo y su polipéptido objetivo, es menor de lo que sería entre dos polipéptidos aleatorios existentes en las mismas condiciones. En otras palabras, la K_D es menor que la debida a la suma no específica de polipéptidos en el sistema.

Un "modelo tumoral", como se usa en la presente, se refiere a un ensayo preclínico *in vivo*, que se puede usar para estudiar la actividad biológica de un anticuerpo ILT4, e incluye sistemas de ensayos de xenoinjerto o tumor murino nativo. En algunos casos, un modelo tumoral puede permitir el seguimiento del tamaño o el crecimiento del tumor luego del tratamiento con el anticuerpo, y/o el seguimiento en presencia de células inmunitarias en el tumor, tales como tipos específicos de células T o células NK, a fin de determinar si un anticuerpo ha desencadenado o aumentado una respuesta inmunitaria.

La expresión "agente de estimulación inmunitaria", como se usa en la presente, se refiere a una molécula que estimula el sistema inmunitario ya sea porque actúa como un agonista de una molécula inmunoestimulante, inclusive una molécula co-estimulante, o porque

actúa como un antagonista de una molécula inmunoinhibidora, inclusive una molécula co-inhibidora. La molécula inmunoestimulante o la molécula inmunoinhibidora puede ser un regulador de puntos de control del sistema inmunitario, tal como un inhibidor del punto de control o estimulador del punto de control. Un agente inmunoestimulante puede ser biológico, tal como un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, otra proteína, o una vacuna, o puede ser un fármaco de molécula pequeña. Una "molécula inmunoestimulante" incluye un receptor o ligando que actúa para aumentar, estimular, inducir o de otro modo "encender" una respuesta inmunitaria. Las moléculas inmunoestimulantes como se definen en la presente incluyen moléculas co-estimulantes. Una "molécula inmunoinhibidora" incluye un receptor o ligando que actúa para reducir, inhibir, suprimir o de otro modo "apagar" una respuesta inmunitaria. Las moléculas inmunoinhibidoras como se definen en la presente incluyen moléculas co-inhibidoras. Tales moléculas inmunoestimulantes e inmunoinhibidoras pueden ser, por ejemplo, receptores o ligandos hallados en células inmunitarias tales como células T, o hallados en células que intervienen en la inmunidad innata tales como células NK.

"Porcentaje (%)" de identidad de secuencias de aminoácidos", "% de identidad", "porcentaje de homología de secuencia de aminoácidos" y "% de homología" con respecto a una secuencia peptídica, polipeptídica o de anticuerpos se refieren al porcentaje de residuos de aminoácidos en una secuencia candidata que es idéntico a los residuos de aminoácidos en la secuencia peptídica o polipeptídica específica, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si es necesario, para alcanzar el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y no considerar ninguna sustitución conservativa como parte de la identidad de secuencia. La alineación con el fin de determinar el porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos se puede lograr de diversas formas que son conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, usando programas de computación disponibles al público tales como BLAST, BLAST-2, ALIGN o MEGALIGN™ (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para medir la alineación, incluyendo los algoritmos necesarios para alcanzar la máxima alineación en toda la longitud de las secuencias que se están comparando.

"Tratamiento", como se usa en la presente, cubre cualquier administración o aplicación de una terapéutica para una enfermedad en un ser humano, e incluye inhibir la enfermedad o la progresión de la enfermedad o uno o más síntomas de la enfermedad, ralentizar la

enfermedad o su progresión o uno o más de sus síntomas, detener su desarrollo, aliviando total o parcialmente la enfermedad o uno o más de sus síntomas, o prevenir la recurrencia de uno o más síntomas de la enfermedad.

Los términos "sujeto" y "paciente" se usan de modo intercambiable en la presente para referirse a un ser humano, a menos que se indique específicamente de otro modo.

La expresión "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para el tratamiento de una enfermedad o un trastorno en un sujeto, tal como aliviar parcial o totalmente uno o más síntomas. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz se refiere a una cantidad eficaz, con las dosis y durante los períodos necesarios para lograr el resultado terapéutico o profiláctico buscado.

El término "cáncer" se usa en la presente para referirse a un grupo de células que exhiben altos niveles anormales de proliferación y crecimiento. Un cáncer puede ser benigno (también denominado tumor benigno), pre-maligno o maligno. Las células cancerosas pueden ser células cancerosas sólidas o células cancerosas leucémicas. La expresión "crecimiento tumoral" se usa en la presente para referirse a la proliferación o el crecimiento de una célula o células que comprenden un cáncer que llevan a un aumento correspondiente en el tamaño o el alcance del cáncer.

Los ejemplos de cánceres aplicables a los métodos de tratamiento de la presente incluyen, entre otros, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Ejemplos no limitantes más particulares de tales cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pituitaria, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejido blando, cáncer de pulmón de células no pequeñas (inclusive cáncer de pulmón de células no pequeñas escamoso), adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, cáncer de glándula salival, cáncer de riñón, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer vulvar, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer de cerebro, cáncer de endometrio, cáncer testicular, colangiocarcinoma, carcinoma de vesícula biliar, cáncer gástrico, melanoma y varios tipos de cáncer de cabeza y cuello (inclusive carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello).

Administración "en combinación con" uno o más agentes terapéuticos adicionales incluye administración simultánea (concurrente) y consecutiva (secuencial) en cualquier orden.

Un "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un relleno sólido, semisólido o líquido, diluyente, material encapsulante, formulación auxiliar, o portador convencional en la técnica, no tóxico, para usar con un agente terapéutico que en conjunto comprenden una "composición farmacéutica" para administrar a un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable no es tóxico para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas y es compatible con cualquier otro ingrediente de la formulación. El portador farmacéuticamente aceptable es apropiado para la formulación empleada. Por ejemplo, si el agente terapéutico se ha de administrar oralmente, el portador puede ser una cápsula de gel. Si el agente terapéutico se ha de administrar subcutáneamente, el portador ideal es el que no provoca irritación en la piel y no provoca reacción en el sitio de inyección.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos que se pueden administrar en los métodos de la presente incluyen, entre otros, agentes alquilantes tales como tiotepa y Cytosan[®] ciclofosfamida; alquil sulfonatos tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carbocona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas inclusive altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bulatacina y bulatacinona); a camptotecina (inclusive el análogo sintético topotecano); briostatina; calistatina; CC-1065 (inclusive sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (inclusive los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongistatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucil, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalan, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, caliqueamicina, particularmente caliqueamicina gammall y caliqueamicina omega II (ver, por ejemplo, Agnew, *Chem Intl. Ed. Engl.*, 33: 183-186 (1994))); dinemicina, inclusive dinemicina A; bisfosfonatos,

tales como clodronato; una esperamicina; como así también neocarzinostatina cromóforo, cromóforos de cromoproteína de antibióticos de enedina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina Adriamycin® (inclusive morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de la purina tales como fludarabina, 6-mercaptapurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de la pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofuro, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionate de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglutetimida, mitotano, trilostano; reforzador de ácido fólico, tal como ácido frónlico; aceglatona; aldofosfamida glucósido; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetate de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2- etilhidrazida; procarbazona; complejo polisacárido PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel Taxol® (Bristol- Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), Abraxane® libre de Cremofor, formulación de nanopartículas de ingeniería con albúmina de paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois), y doxetaxel Taxotere® (Rhône- Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucilo; gemcitabina Gemzar®; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-

16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; vinorelbina Navelbine®; novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecano (Camptosar, CPT-11) (inclusive el regimen de tratamiento de irinotecano con 5-FU y leucovorina); inhibidor de topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; combretastatina; leucovorina (LV); oxaliplatino, inclusive el regimen de tratamiento con oxaliplatino (FOLFOX); inhibidores de alfa PKC, Raf, H-Ras, EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva®)) y VEGF-A que reduce la proliferación celular y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los mencionados.

Los agentes quimioterapéuticos adicionales ejemplares no limitantes que se pueden administrar en métodos de la presente incluyen agentes anti-hormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal en cánceres tales como anti-estrógenos y moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM), inclusive, por ejemplo, tamoxifeno (inclusive tamoxifeno Nolvadex®), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona, y toremifeno Fareston®; inhibidores de aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, que regula la producción de estrógenos en las glándulas adrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutetimida, acetato de megestrol Megase®, exemestano Aromasin®, formestano, fadrozol, vorozol Rivisor®, letrozol Femara®, y anastrozol Arimidex®; y anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida, y goserelina; como así también troxacitabina (un análogo de 1,3-dioxolano nucleósido citosina); oligonucleótidos antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en las vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tal como, por ejemplo, PKC-alfa, Ralf y H-Ras; ribozimas tales como un inhibidor de expresión de VEGF (por ejemplo, ribozima Angiozyme®) y un inhibidor de expresión de HER2; vacunas tales como vacunas para terapia génica, por ejemplo, vacuna Allovectin®, vacuna Leuvectin®, y vacuna Vaxid®; rIL-2 Proleukin®; inhibidor de topoisomerasa 1 Lurtotecan®; rmRH Abareliz®; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los mencionados.

Un "agente anti-angiogénesis" o "inhibidor de angiogénesis" se refiere a una sustancia con pequeño peso molecular, un polinucleótido (inclusive, por ejemplo, un inhibidor de ARN (ARNi o ARNsi)), un polipéptido, una proteína aislada, una proteína recombinante, un anticuerpo, o conjugados o proteínas de fusión de estos, que inhiben la angiogénesis, la vasculogénesis, o la permeabilidad vascular no deseada, ya sea directa o indirectamente. Se

deberá entender que el agente anti-angiogénesis incluye aquellos agentes que se unen y bloquean la actividad angiogénica del factor angiogénico o su receptor. Por ejemplo, un agente anti-angiogénesis que se puede administrar en los métodos de la presente pueden incluir un anticuerpo u otro antagonista a un agente angiogénico, por ejemplo, anticuerpos a VEGF-A (por ejemplo, bevacizumab (Avastin[®])) o al receptor VEGF-A (por ejemplo, receptor KDR o receptor Flt-1), inhibidores anti-PDGFR tales como Gleevec[®] (mesilato de imatinib), pequeñas moléculas que bloquean la señalización del receptor VEGF (por ejemplo, PTK787/ZK2284, SU6668, Sutent[®]/SU11248 (malato de sunitinib), AMG706, o aquellos descritos, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO 2004/113304). Los agentes anti-angiogénesis también incluyen inhibidores nativos de angiogénesis, por ejemplo, angiostatina, endostatina, etc. Ver, por ejemplo, Klagsbrun y D'Amore (1991) *Annu. Rev. Physiol.* 53:217-39; Streit y Detmar (2003) *Oncogene* 22:3172-3179 (por ejemplo, la enumeración de la Tabla 3 de terapia anti-angiogénica en melanoma maligno); Ferrara & Alitalo (1999) *Nature Medicine* 5(12):1359-1364; Tonini *et al.* (2003) *Oncogene* 22:6549-6556 (por ejemplo, la enumeración en la Tabla 2 de factores anti-angiogénicos conocidos); y Sato (2003) *Int. J. Clin. Oncol.* 8:200-206 (por ejemplo, la enumeración en la Tabla 1 de agentes anti-angiogénicos usados en ensayos clínicos).

Un "agente inhibidor de crecimiento", como se usa en la presente, se refiere a un compuesto o una composición que inhibe el crecimiento de una célula (tal como una célula que expresa VEGF) ya sea *in vitro* o *in vivo*. Por lo tanto, el agente inhibidor de crecimiento que se puede administrar en los métodos de la presente puede ser uno que reduce significativamente el porcentaje de células (tal como una célula que expresa VEGF) en fase S. Los ejemplos de agentes inhibidores de crecimiento incluyen, entre otros, agentes que bloquean la progresión del ciclo celular (en un lugar distinto de la fase S), tales como agentes que inducen la detención de la fase G1 y detención de la fase M. Los bloqueadores clásicos de la fase M incluyen los inhibidores de vincas (vincristina y vinblastina), taxanos y topoisomerasa II, tales como doxorubicina, epirubicina, daunorubicina, etopósido y bleomicina. Aquellos agentes que detienen G1 también se propagan en la detención de la fase S, por ejemplo, agentes alquilantes de ADN tales como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatino, metotrexato, 5-fluorouracilo y ara-C. Se puede encontrar información adicional en Mendelsohn e Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Capítulo

1, titulado "*Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs*" por Murakami *et al.* (W.B. Saunders, Philadelphia, 1995), por ejemplo, p. 13. Los taxanos (paclitaxel y docetaxel) son fármacos anticáncer, ambos derivados del árbol llamado tejo. Docetaxel (Taxotere[®], Rhone-Poulenc Rorer), derivado del tejo europeo, es un análogo semisintético de paclitaxel (Taxol[®], Bristol-Myers Squibb). Paclitaxel y docetaxel promueven el ensamble de microtúbulos de dímeros de tubulina y estabilizan microtúbulos al evitar la depolimerización, lo que da por resultado la inhibición de la mitosis en las células.

La expresión "composición anti-neoplásica" se refiere a una composición útil en el tratamiento del cáncer que comprende al menos un agente terapéutico activo. Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen, entre otros, por ejemplo, agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores de crecimiento, agentes citotóxicos, agentes usados en radioterapia, agentes anti-angiogénesis, agentes inmunoterapéuticos contra el cáncer, agentes apoptóticos, agentes anti-tubulina, y otros agentes para tratar el cáncer, tales como anticuerpos anti-HER-2, anticuerpos anti-CD20, un antagonista del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (por ejemplo, un inhibidor de tirosina quinasa), inhibidor HER1/EGFR (por ejemplo, erlotinib (Tarceva[®]), inhibidores del factor de crecimiento derivados de plaquetas (por ejemplo, Gleevec[®] (mesilato de imatinib)), un inhibidor COX-2 (por ejemplo, celecoxib), interferones, inhibidores CTLA4 (por ejemplo, anticuerpo anti-CTLA ipilimumab (YERVOY[®])), inhibidores PD-1 o PD-L1 (por ejemplo, OPDIVO[®], KEYTRUDA[®], TECENTRIQ[®], BAVENCIO[®], IMFINZI[®]), inhibidores TIM3 (por ejemplo, anticuerpos anti-TIM3), inhibidores LAG-3, citoquinas, antagonistas (por ejemplo, anticuerpos neutralizadores) que se unen a uno o más de los siguientes objetivos ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA, CTLA4, TIM3, o receptor(es) VEGF, TRAIL/Apo2, y otros agentes bioactivos y químicos orgánicos, etc. Sus combinaciones también se incluyen en esta divulgación.

Anticuerpos que se unen específicamente a ILT4

La Tabla de Secuencias a continuación proporciona la secuencia de aminoácidos de ILT4 humano con o sin péptido señal, respectivamente (ver las SEQ ID NO: 107-108 y 110-111). El dominio extracelular (ECD) comprende los residuos de aminoácidos que se muestran en las SEQ ID NO: 109 y 112. Un ECD ejemplar acoplado a una marca His-Avi comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119.

Los anticuerpos (Abs) anti-ITL4 pueden unirse específicamente al ILT4-ECD o fragmentos de este (ver las SEQ ID No: 109 y 112, así como también 119).

Se proporcionan Abs que se unen a ILT4 con una K_D de 10^{-6} M o menos, 10^{-7} M o menos, 10^{-8} M o menos, 10^{-9} M o menos o 10^{-10} M o menos, como se mide, por ejemplo, a 25 °C o a 37 °C.

La determinación de cuán bien se une un Ab a una proteína ILT4 se puede realizar usando varios métodos diferentes. Por ejemplo, la resonancia de plasmón superficial (SPR), tal como mediante ensayos BIACORE®. Un ejemplo de ensayo SPR comprende capturar uno o varios anticuerpos sobre un chip sensor CM4 con reactivo de captura inmovilizado (por ejemplo, usando el kit de captura Fc antihumano Biacore®, GE Healthcare Nro. de catálogo BR-1008-39, o el kit de captura anti-ratón Biacore®, GE Healthcare Nro. de catálogo BR-1008-39), y haciendo circular el antígeno ILT4 (por ejemplo, ECD ILT4) como analito en una serie de concentraciones para determinar la cinética de unión y las afinidades en un tampón de corrida. En una realización, se inyecta ILT4 con concentraciones de dos a cinco dentro del rango de 0,1 nM a 500 nM (por ejemplo, 0,1 nM, 1 nM, 10 nM, 100 nM, 500 nM) con un caudal de 30 uL/min, hasta un tiempo de asociación de cuatro minutos y hasta un tiempo de disociación de diez minutos. Entre los ciclos de unión, se regenera la superficie de captura siguiendo las instrucciones del fabricante para el correspondiente kit de captura. Toda la información es doblemente referenciada usando una celda de flujo de referencia y la inyección de un blanco. La información con cinética simple 1:1 se ajusta a un modelo de unión de Langmuir con transferencia de masa usando el programa de evaluación T200 Biacore®. También se pueden utilizar los métodos SPR descriptos en los Ejemplos.

La afinidad de un Ab por un polipéptido ECD ILT4 se puede determinar usando células que expresan un polipéptido ILT4 sobre sus superficies, método que comprende citometría de flujo,. Un ejemplo de ensayo de citometría de flujo comprende lo siguiente: Se re-suspenden linfocitos T u otras células que expresan ectópicamente ILT4 en un tampón en el que se diluyó en serie el Ab desde aproximadamente 20 µg/mL y se incuban con las células re-suspendidas durante 30 minutos a 4 °C. Las células luego se lavan dos veces con los mismos tampones, manteniendo las condiciones amortiguadoras deseadas, y se incuban con un anticuerpo secundario conjugado con fluoróforos que reconoce al anticuerpo primario (por

ejemplo, IgG humana). Las células luego se lavan como anteriormente y se obtienen inmediatamente, sin fijación, sobre un citómetro de flujo BD Fortessa® u otro similar. La afinidad de un Ab por un polipéptido ILT4 se puede determinar como se describió en los Ejemplos.

En ciertas realizaciones, los Ab que se unen a ILT4 bloquean la unión de ILT4 a células diana, tales como linfocitos T. La inhibición o el bloqueo puede ser del 100 % o al menos del 99 %, 95 %, 90 %, 85 %, 80 %, 75 % o 50 %.

La inhibición de unión entre ILT4 y células de unión a ILT4, tales como linfocitos T se puede determinar midiendo la inhibición de unión de células a las cuales se une ILT4, en presencia o ausencia del anticuerpo. Un experimento ejemplar que se puede usar para determinar si un anticuerpo inhibe la unión de ILT4 a células de unión a ILT4 es un ensayo de citometría de flujo, por ejemplo, un ensayo que comprende lo siguiente: células humanas mononucleares de sangre periférica de sangre de donante, de capa leucoplaquetaria o Leuko Pack se re-suspenden en un tampón que consiste en HBSS + 1% BSA. Las células luego se incuban durante 30 minutos a 4 °C con 20 µg/mL de, por ejemplo, ECD ILT4 o una proteína de fusión de ECD ILT4 fusionada con IgG1 Fc humana y con concentraciones variadas de anticuerpos candidatos de bloqueo de ILT4 o anticuerpos de control. Las células luego se lavan dos veces en los mismos tampones, y se incuban durante otros 30 minutos a 4 °C con un anticuerpo secundario conjugado con fluoróforos que reconoce ILT4, pero no los anticuerpos de bloqueo candidatos ni los anticuerpos de control. Las células luego se lavan como anteriormente y se obtienen inmediatamente, sin fijación, sobre un citómetro de flujo BD Fortessa® u otro similar. La inhibición de la unión también se puede determinar, por ejemplo, según se describe en los Ejemplos.

Ejemplos de Ab que se unen a ILT4

En la presente se proporcionan Ab que se unen específicamente a ILT4, por ejemplo, a ECD ILT4.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una región variable de cadena pesada ("VH") que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. Las CDR VH de la presente son CDR de Kabat como se muestra en las Figuras 1, 3, 5, 7, 9 y 11 en la presente, a menos que se indique de otro modo

(por ejemplo, una CDR1 AbM, etc.). En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 2E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, (es decir, cualquiera de 9G4 (SEQ ID Nos: 125-127), 9C8 (SEQ ID Nos: 131-133), 2H2 (SEQ ID Nos: 137-139), 2E5 (SEQ ID Nos: 143-145), 24E5 (SEQ ID Nos: 149-151), 21D9 (SEQ ID Nos: 155-157), 21D9.b (SEQ ID Nos: 155-157), 21D9.c (SEQ ID Nos: 155-157), 21D9.d (SEQ ID Nos: 155-157), 21D9.e (SEQ ID Nos: 155-157), 21A5 (SEQ ID Nos: 161-163), 10F10 (SEQ ID Nos: 167-169), 10F10.1 (SEQ ID Nos: 167-169), 10F10.3 (SEQ ID Nos: 167-169), o 10F10.4 (SEQ ID Nos: 167-169)).

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH de cualquiera de los Abs ILT4 que se proporcionan en la presente. En determinadas realizaciones, un Ab ILT4 comprende un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. Las CDR VL de la presente son CDR de Kabat como se muestra en las Figuras 2, 4, 6, 8, 10 y 12 en la presente, a menos que se indique de otro modo (por ejemplo, una CDR1 AbM, etc.). En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende las CDR1, CDR2 y/o CDR3 de VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4 y una VL que comprende las CDR1, CDR2, y/o CDR3 de VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4 (es decir, cualquiera de 9G4 (SEQ ID Nos: 128-130), 9C8 (SEQ ID Nos: 134-136), 2H2 (SEQ ID Nos: 140-142), 2E5 (SEQ ID Nos: 146-148), 24E5 (SEQ ID Nos: 152-

154), 21D9 (SEQ ID Nos: 158-160), 21D9.b (SEQ ID Nos: 158-160), 21D9.c (SEQ ID Nos: 158-160), 21D9.d (SEQ ID Nos: 158-160), 21D9.e (SEQ ID Nos: 158-160), 21A5 (SEQ ID Nos: 164-166), 10F10 (SEQ ID Nos: 170-172), 10F10.1 (SEQ ID Nos: 170-172), 10F10.3 (SEQ ID Nos: 170-172), o 10F10.4 (SEQ ID Nos: 170-172)).

En algunas realizaciones, un Ab ILT4 puede comprender:

- (a) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 9G4 y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 9G4;
- (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de 9C8 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 9C8;
- (c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de 2H2 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 2H2;
- (d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 de VH de 25E5 y una VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de VL de 25E5;
- (e) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 24E5 y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 24E5;
- (f) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9 y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9;
- (g) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.b y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.b;
- (h) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.c y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.c;
- (i) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.d y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.d;
- (j) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21D9.e y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21D9.e;
- (k) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21A5 y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21A5;
- (l) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 21A5.a y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 21A5.a;
- (m) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10 y un VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10;

(n) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10.1 y un VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10.1;

(o) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10.3 y un VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10.3; o

(p) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de 10F10.4 y un VL que comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 VL de 10F10.4.

Nuevamente, la Tabla de Secuencias a continuación proporciona las secuencias de región variable de cadena pesada y ligera y secuencias de cadena pesada y ligera de longitud completa de los anticuerpos enumerados anteriormente.

En determinadas realizaciones, un Ab ILT4 comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de cualquiera de los Abs ILT4 proporcionados en la presente. Las secuencias VH individuales para especies de anticuerpos particulares proporcionadas en la presente se enumeran en la Tabla de secuencias. En determinadas realizaciones, un Ab ILT4 comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos del VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, (es decir, cualquiera de 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135), 9C8 (SEQ ID NO: 55), 2H2 (SEQ ID NO: 58), 2E5 (SEQ ID NO: 63), 24E5 (SEQ ID NO: 67), 21D9 (SEQ ID NO: 71), 21D9.b (SEQ ID NO: 74), 21D9.c (SEQ ID NO: 75), 21D9.d (SEQ ID NO: 78), 21D9.e (SEQ ID NO: 80), 21A5 (SEQ ID NO: 83), 21A5.a (SEQ ID NO: 87), 10F10 (SEQ ID NO: 91), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91)).

En algunas realizaciones, un Ab ILT4 comprende el VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, pero con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia VH, tales como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras. En algunas realizaciones, un Ab ILT4 comprende el VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, pero con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión en las regiones marco de la secuencia VH.

En algunas realizaciones, un Ab ILT4 comprende las CDR VH y VL de cualquiera de los Abs ILT4 descritos en la presente, donde las CDR comprenden 1, 2 o 3 adiciones, sustituciones (por ejemplo, sustituciones conservadoras) o eliminaciones de aminoácidos entre todas las

CDR.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente y comprende una VH 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 la VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos 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 la secuencia de aminoácidos de la VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4. En determinadas realizaciones, la VH del anticuerpo se diferencia de la de las secuencias VH que se muestran en la Tabla de secuencias debido a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia de VH, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras. En determinadas realizaciones, el VH del anticuerpo difiere del de las secuencias VH que se muestran en la Tabla de secuencias debido a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión en las regiones marco de la secuencia VH.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que consiste en las secuencias de aminoácidos de la VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VL que comprende las secuencias de aminoácidos de VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, (es decir, 9G4 (SEQ ID NO: 50, aminoácidos 19-125), 9C8 (SEQ ID NO: 54), 2H2 (SEQ ID NO: 59), 2E5 (SEQ ID NO: 62), 24E5 (SEQ ID NO: 66), 21D9 (SEQ ID NO: 70), 21D9.b (SEQ ID NO: 70), 21D9.c (SEQ ID NO: 70), 21D9.d (SEQ ID NO: 70), 21D9.e (SEQ ID NO: 70), 21A5 (SEQ ID NO: 82), 21A5.a (SEQ ID NO: 86), 10F10 (SEQ ID NO: 90), 10F10.1 (SEQ ID NO: 94), 10F10.3 (SEQ ID NO:

96), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 114)). En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente y comprende una VL 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 la VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VL que comprende una secuencia de aminoácidos 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 la secuencia de aminoácidos de VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4. En determinadas realizaciones, la VL del anticuerpo difiere de la de las secuencias de VL que se muestran en la Tabla de secuencias debio a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia de VL, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras. En determinadas realizaciones, el VL del anticuerpo difiere del de las secuencias VL que se muestran en la Tabla de secuencias debido a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VL que consiste en las secuencias de aminoácidos de VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende las secuencias de aminoácidos de la VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente y comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas de estas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4; y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4.

En determinadas realizaciones, sin embargo, la VH del anticuerpo es la de cualquiera de 9G4,

9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, pero con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos en las regiones marco de la secuencia de VH, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras, y la VL es la de cualquiera de las mismas especies de la lista anterior. En ciertas realizaciones, sin embargo, la VH del anticuerpo es la de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, pero con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión en las regiones marco de la secuencia VH.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende un VH y un VL que comprenden las secuencias de aminoácidos del VH y VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VH de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente como así también una CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de las CDR VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente, y también comprende una VH y una VL, cada una de las cuales 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 la VH y la VL correspondiente de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, la VH y la VL del anticuerpo difieren de las secuencias de VH y VL que se muestran en la Tabla de secuencias debido a 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones en las regiones marco de las secuencias, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones conservadoras, o tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH y una VL que consisten en las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una VH y una VL cada una de las cuales consiste en las secuencias de aminoácidos de la VH y la VL de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4.

Un Ab ILT4 puede comprender:

- (a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 9G4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 9G4;

- (b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 9C8 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 9C8;
- (c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 2H2 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 2H2;
- (d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 25E5 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 25E5;
- (e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 24E5 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 24E5;
- (f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21D9 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21D9;
- (g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21D9.b y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21D9.b;
- (h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21D9.c y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21D9.c;
- (i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21D9.d y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21D9.d;
- (j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21D9.e y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21D9.e;
- (k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21A5 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21A5;
- (l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 21A5.a y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de VL de 21A5.a;
- (m) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10;
- (n) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10.1 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10.1;
- (o) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10.3 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10.3; o
- (p) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10.4 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10.4.

Un Ab ILT4 puede comprender:

- 5 (a) una VH que comprende las CDR VH de VH de la VH de 9G4, y una VL que comprende las CDR VL de 9G4, y las secuencias de aminoácidos VH y VL que son 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 % idénticas al VH y VL de 9G4;
- 10 (b) una VH que comprende las CDR VH de VH de 9C8 y una VL que comprende las CDR VL de 9C8 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 9C8;
- 15 (c) una VH que comprende las CDR VH de VH de 2H2 y una VL que comprende las CDR VL de 2H2 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 2H2;
- 20 (d) una VH que comprende las CDR VH de VH de 25E5 y una VL que comprende las CDR VL de 25E5 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 25E5;
- 25 (e) una VH que comprende las CDR VH de VH de 24E5 y una VL que comprende las CDR VL de 24E5 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 24E5;
- 30 (f) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21D9 y una VL que comprende las CDR VL de 21D9 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21D9;
- (g) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21D9.b y una VL que comprende las CDR VL de 21D9.b y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21D9.b;
- 35 (h) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21D9.c y una VL que comprende las CDR VL de 21D9.c y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21D9.c;

(i) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21D9.d y una VL que comprende las CDR VL de 21D9.d y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21D9.d;

(j) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21D9.e y una VL que comprende las CDR VL de 21D9.e y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21D9.e;

(k) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21A5 y una VL que comprende las CDR VL de 21A5 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21A5;

(l) una VH que comprende las CDR VH de VH de 21A5.a y una VL que comprende las CDR VL de 21A5.a y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 21A5.a;

(m) una VH que comprende las CDR VH de VH de 10F10 y una VL que comprende las CDR VL de 10F10 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 10F10;

(n) una VH que comprende las CDR VH de VH de 10F10.1 y una VL que comprende las CDR VL de 10F10.1 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 10F10.1;

(o) una VH que comprende las CDR VH de VH de 10F10.3 y una VL que comprende las CDR VL de 10F10.3 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 10F10.3; o

(p) una VH que comprende las CDR VH de VH de 10F10.3 y una VL que comprende las

CDR VL de 10F10.4 y secuencias de aminoácidos de VH y VL que son 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% idénticas a la VH y VL de 10F10.4.

En algunas de las realizaciones anteriores, la VH y/o VL pueden diferir de la secuencia de cada una de las especies (a) a (p) por la presencia de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tal como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la VH puede comprender 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión.

Un Ab ILT4 puede comprender:

- (a) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 9G4 y un VL que consiste en el VL de 9G4;
- (b) un VH que consiste en la secuencia de aminoácidos del VH de 9C8 y un VL que consiste en el VL de 9C8;
- (c) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 2H2 y un VL que consiste en el VL de 2H2;
- (d) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 25E5 y un VL que consiste en el VL de 25E5;
- (e) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 24E5 y un VL que consiste en el VL de 24E5;
- (f) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21D9 y un VL que consiste en el VL de 21D9;
- (g) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21D9.b y un VL que consiste en el VL de 21D9.b;
- (h) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21D9.c y un VL que consiste en el VL de 21D9.c;
- (i) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21D9.d y un VL que consiste en el VL de 21D9.d;
- (j) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21D9.e y un VL que consiste en el VL de 21D9.e;
- (k) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21A5 y un VL que

consiste en el VL de 21A5;

(l) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de VH de 21A5.a y un VL que consiste en el VL de 21A5.a;

(m) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10 y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10;

(n) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10.1 y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10.1;

(o) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10.3 y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10.3; o

(p) una VH que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VH de 10F10.4 y una VL que consiste en la secuencia de aminoácidos de la VL de 10F10.4.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende cualquiera de las regiones variables y/o las CDR 1-3 de región variable de los anticuerpos descritos en la presente, tales como:

(1) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;

(2) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;

(3) el VH de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;

(4) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH y una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;

(5) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3 o 10F10.4;

(6) la VH y las VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;

o

(7) la VL y la VH, con la excepción de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión o conservadoras en la VH y/o VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4; y el Ab ILT4 también

es un anticuerpo IgG, tal como anticuerpo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 o una forma modificada de estos como se describe en la sección a continuación. En algunas realizaciones, la región constante tiene una función efectora, y en algunas realizaciones, la región constante no tiene función efectora. En ciertas realizaciones, la región constante es la de IgG1.3 o IgG1.1f u otra región constante descrita en la presente, por ejemplo, IgG1 e IgG1.238K.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende cualquiera de las regiones variables y/o las CDR 1-3 de región variable de los anticuerpos descritos en la presente, tales como:

- (1) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;
- (2) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;
- (3) la VH de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;
- (4) una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VH y una o más CDR1, CDR2 y CDR3 VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;
- (5) las CDR1, CDR2 y CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;
- (6) la VH y las VL de: 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4;

o

- (7) la VL y la VH de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, con la excepción de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión o conservadoras en la VH y/o VL;

y el anticuerpo comprende además uno o varios de las siguientes características:

- unión específica a hILT4, por ejemplo, con una K_D de 10^{-8} M, 10^{-9} M o menos;
- ausencia de unión específica a hILT2, hILT3, hILT5;
- ausencia de unión específica a uno o más miembros de las familias LILRA y/o LILRB;
- estimula la activación de linfocitos T, por ejemplo, en un MLR, según se mide mediante el aumento de la proliferación de linfocitos T o la secreción de IFN- γ , por ejemplo, como se

muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- estimula la diferenciación o activación de monocitos en macrófagos, por ejemplo, estimula la diferenciación de monocitos en macrófagos proinflamatorios, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- promueve la expresión de CD83 y CD86 en células dendríticas inmaduras derivadas de monocitos humanos (Mo-iDC), por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- mejora la secreción de IFN- γ tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de CMV, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- mejora la secreción de IFN- γ y TNF- α por linfocitos T CD4+ y CD8+ T en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (alo-MLR) tras la estimulación de CD3, por ejemplo, como se muestra en un ensayo descrito en los Ejemplos;

- no induce (o desencadena) la activación de basófilos;

- inhibe la unión de HLA-A y/o HLA-B a ILT4;

- tiene un perfil de unión a hILT4 como se muestra en la Fig. 27 o Fig. 37C;

- se une a dominios tipo Ig 1, 2 o 1 y 2 de hILT4 (que corresponden a los aminoácidos 27-110 y 111-229 de la SEQ ID NO: 107, respectivamente), tal como a una región que comprende (i) ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121); (ii) ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122); o (iii) ¹⁵⁴ILCKEGEEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123) y/o ⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124), como se determina por intercambio de deuterio de hidrógeno (HDX), por ejemplo, como se muestra en un ensayo de HDX descrito en los Ejemplos;

- no se une significativamente a otras regiones del dominio extracelular de ILT4, tales como regiones o residuos que se ubican en el extremo N al aminoácido I70; en donde la numeración de aminoácidos de hILT4 es aquella de hILT4 inmaduro (es decir, ILT4 con su secuencia señal);

- compete por la unión a hILT4 con un anticuerpo descrito en la presente;

- se une específicamente a ILT4 cyno que comprende la SEQ ID NO: 118, por ejemplo, como se muestra en un ensayo de unión descrito en los Ejemplos;

- promueve la polarización proinflamatoria de macrófagos hacia macrófagos M1;

- no induce (o desencadena) la activación de basófilos; y

- comprende menos de 5% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 25°C y/o menos de 10% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 40°C.

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4, como se muestra a continuación en la Tabla de Secuencias (es decir, una secuencia de HC completa como se proporciona en la Tabla, o un compuesto de una secuencia de VH para el anticuerpo con una secuencia de región constante de HC tal como SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179, como se proporciona en la Tabla)..

Por lo tanto, por ejemplo, en algunas realizaciones, el anticuerpo puede comprender una secuencia de aminoácidos de HC de uno de los tipos a continuación, que comprende una secuencia de aminoácidos como sigue:

- a. IgG1, por ejemplo 9G4.IgG1, 9G4 (SEQ ID NO: 2), 9C8 (SEQ ID NO: 4), 2H2 (SEQ ID NO: 6), 2E5 (SEQ ID NO: 8), 24E5 (SEQ ID NO: 10), 21D9 (SEQ ID NO: 12), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 98), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 98), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 98), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 98), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 98), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 98), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 98),
- b. IgG1, por ejemplo 9G4.IgG1, 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 102), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 102), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 102), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 102), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 102), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 102), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 102), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 102), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 102), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 102), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 102), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 102), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102), 10F10.3

- (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 102),
- c. IgG1.3 (por ejemplo 9G4.IgG1.3, etc.), 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 100), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 100), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 100), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 100), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 100), 21D9 ((i) SEQ ID NO: 113, o (ii) SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 100), 21D9.b (SEQ ID NO: 36), 21D9.c (SEQ ID NO: 38), 21D9.d (SEQ ID NO: 40), 21D9.e (SEQ ID NO: 13), 21A5 (SEQ ID NO: 15), 21A5.a (SEQ ID NO: 17), 10F10 (SEQ ID NO: 19), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 100), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 100), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 100);
- d. IgG1.1f (por ejemplo 9G4.IgG1.1f, etc.), 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 103), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 103), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 103), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 103), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 103), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 103), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 103), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 103), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 103), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 103), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 103), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 103), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 103),
- e. IgG1fa.P238K (por ejemplo, 9G4.IgG1fa.P238K, etc.) 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 104), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 104), 2H2 (SEQ ID NO: 58 y SEQ ID NO: 104), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 104), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 104), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 104), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 104), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 104), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 104), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 104), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 104), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 104), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 104), o
- f. IgG4 S228P (por ejemplo 9G4.IgG4 S228P, etc.), 9G4 (SEQ ID NO: 51, aminoácidos 20-135, y SEQ ID NO: 179), 9C8 (SEQ ID NO: 55 y SEQ ID NO: 179), 2H2 (SEQ ID

NO: 58 y SEQ ID NO: 179), 2E5 (SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 179), 24E5 (SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 179), 21D9 (SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 179), 21D9.b (SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 179), 21D9.c (SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 179), 21D9.d (SEQ ID NO: 78 y SEQ ID NO: 179), 21D9.e (SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 179), 21A5 (SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 179), 21A5.a (SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 179), 10F10 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179), 10F10.1 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179), 10F10.3 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 91 y SEQ ID NO: 179).

En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente, que comprenden una región constante de cadena pesada IgG1.3, y la secuencia de secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cualquiera de los Ab ILT4 proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, un Ab ILT4 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la VH de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1, 10F10.3, o 10F10.4, que comprenden una región constante HC IgG1.3, (que se indica mediante la nomenclatura 9G4.IgG1.3, etc.); y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de cualquiera de 9G4, 9C8, 2H2, 25E5, 24E5, 21D9, 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 10F10, 10F10.1 o 10F10.3, o 10F10.4. En algunas modalidades, la cadena ligera es una cadena ligera Kappa que comprende una secuencia de aminoácidos como sigue: 9G4 (SEQ ID NO: 1), 9C8 (SEQ ID NO: 3), 2H2 (SEQ ID NO: 5), 2E5 (SEQ ID NO: 7), 24E5 (SEQ ID NO: 9), 21D9 (SEQ ID NO: 11), 21D9.b, 21D9.c, 21D9.d, 21D9.e, 21A5 (SEQ ID NO: 14), 21A5.a (SEQ ID NO: 16), 10F10 (SEQ ID NO: 18), 10F10.1 (SEQ ID NO: 20), 10F10.3 (SEQ ID NO: 21), o 10F10.4 (SEQ ID NO: 116).

Un Ab ILT4 puede comprender:

- (a) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 9G4 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 9G4;
- (b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 9C8 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de

9C8;

(c) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 2H2 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 2H2;

(d) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 25E5 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 25E5;

(e) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 24E5 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 24E5;

(f) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 9G4 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9;

(g) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.b y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.b;

(h) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.c y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.c;

(i) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.d y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.d;

(j) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.e y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.e;

(k) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21A5 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21A5;

(l) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21A5.a y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21A5.a;

(m) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 10F10 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10;

(n) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 10F10.1 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10.1;

(o) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 10F10.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10.3; o

(p) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 10F10.4 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 10F10.4.

Un Ab ILT4 puede comprender:

(a) una cadena pesada (HC) que comprende las CDR HC de la HC de 9G4 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 9G4 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 9G4, respectivamente;

(b) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 9C8 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 9C8 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 9C8, respectivamente;

(c) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 2H2 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 2H2 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 2H2, respectivamente;

(d) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 25E5 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 25E5 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 25E5, respectivamente;

5 (e) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 24E5 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 24E5 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 24E5, respectivamente;

10 (f) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21D9 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21D9 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21D9, respectivamente;

15 (g) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21D9.b y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21D9.b y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21D9.b, respectivamente;

20 (h) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21D9.c y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21D9.c y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21D9.c, respectivamente;

25 (i) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21D9.d y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21D9.d y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21D9.d, respectivamente;

30 (j) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21D9.e y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21D9.e y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21D9.e, respectivamente;

35

96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% idénticas a las HC y LC de 21D9.e, respectivamente;

5 (k) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21A5 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21A5 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21A5, respectivamente;

10 (l) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 21A5.a y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 21A5.a y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 21A5.a, respectivamente;

15 (m) una HC que comprende las CDR HC de la HC de 10F10 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR LC de 10F10 y secuencias de aminoácidos HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 10F10, respectivamente;

20 (n) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de 10F10.1 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de 10F10.1 y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 10F10.1, respectivamente;

25 (o) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de 10F10.3 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de 10F10.3 y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC de 10F10.3, respectivamente; o

30 (p) una HC que comprende las CDR de HC de la HC de 10F10.3 y una cadena ligera (LC) que comprende las CDR de LC de 10F10.4 y las secuencias de aminoácidos de HC y LC que son 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% idénticas a las HC y LC

35

de 10F10.4, respectivamente.

En algunas de las realizaciones anteriores, la HC y/o LC puede diferir de la secuencia de cada una de las especies (a) a (p) por la presencia de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tales como, 1, 2, 3, 4, o 5 sustituciones conservadoras. En algunas de las realizaciones anteriores, la HC y/o LC puede diferir de la secuencia de cada una de las especies (a) a (p) por la presencia de 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos, tales como 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de reversión.

En algunas realizaciones, un Ab ILT4 puede comprender:

- (a) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 9G4 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 9G4;
- (b) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 9C8 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 9C8;
- (c) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 2H2 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 2H2;
- (d) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 25E5 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 25E5;
- (e) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 24E5 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 24E5;
- (f) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9;
- (g) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.b y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.b;
- (h) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.c y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera

de 21D9.c;

(i) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.d y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.d;

(j) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21D9.e y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21D9.e;

(k) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21A5 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21A5;

(l) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena pesada de 21A5.a y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácidos de cadena ligera de 21A5.a;

(m) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de 10F10;

(n) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10.1 y una cadena ligera que consiste en la secuencia de aminoácido de la cadena ligera de 10F10.1;

(o) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10.3 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 10F10.3; o

(p) una cadena pesada que consiste en la secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de 10F10.4 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de 10F10.4.

En algunas realizaciones, un Ab ILT4 puede comprender una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos VH de las especies de anticuerpos de la presente, pero en vez de una región constante de cadena pesada IgG1.3, como se proporciona en las secuencias HC en la Tabla de Secuencias en la presente (y véase SEQ ID NO: 100), el anticuerpo puede comprender una secuencia de región constante de cadena pesada diferente, tal como una región constante de IgG1 humana

de tipo salvaje tal como las proporcionadas en las SEQ ID No: 98 y 102-104, o una región constante de cadena pesada IgG4, o una región constante IgG4 con una sustitución S228P (numeración EU), o cualquiera de las otras regiones constantes de cadena pesada descritas en la sección en regiones constantes que figuran más adelante.

En algunas realizaciones, dichos Abs ILT4 modificados poseen una o varias de las siguientes características:

- unión específica a hILT4, por ejemplo, con una K_D de 10^{-8} M o menos, o de 10^{-9} M o menos;
- ausencia de unión específica a uno, dos o los tres hILT2, hILT3, hILT5;
- ausencia de unión específica a uno o más miembros de las familias LILRA y/o LILRB;
- estimula la activación de linfocitos T, por ejemplo, en un ensayo MLR, como se mide mediante el aumento de la proliferación de linfocitos T o la secreción de IFN-gamma; y estimula la diferenciación o activación de monocitos en macrófagos.

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a dominios tipo Ig 1, 2 o 1 y 2 de hILT4, que corresponden a los aminoácidos 27-110 en la secuencia de SEQ ID NO: 107 (dominio 1) y 111-229 en esa secuencia (dominio 2), en las ubicaciones que comprenden ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121); (ii) ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122); o (iii) ¹⁵⁴ILCKEGEEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123) y/o ⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124), como se determina por intercambio de deuterio de hidrógeno (HDX), por ejemplo, como se muestra en un ensayo de HDX descrito en los Ejemplos. (Ver Fig. 27.)

Regiones constantes de anticuerpos ejemplares

En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente comprende una o más regiones constantes humanas. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada humana es de un isotipo seleccionado entre IgA, IgG e IgD. En algunas realizaciones, la región constante de cadena ligera humana es de un isotipo seleccionado entre κ y λ . En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de IgG humana tal como una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de cadena pesada de IgG4 humana. En algunas de tales realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente

comprende una mutación S241P en la región constante de IgG4 humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente comprende una región constante de IgG4 humana y una cadena ligera κ humana.

La elección de la región constante de cadena pesada puede determinar si un anticuerpo tendrá o no una función efectora *in vivo*. Dicha función efectora, en algunas realizaciones, incluye citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), y puede resultar en la eliminación de la célula a la cual se une el anticuerpo. En algunos métodos de tratamiento, inclusive en métodos para tratar algunos cánceres, se puede buscar la eliminación de células, por ejemplo, cuando el anticuerpo se une a células que sostienen el mantenimiento o el crecimiento del tumor. Los ejemplos de células que pueden sostener el mantenimiento o el crecimiento de un tumor incluyen, entre otras, las propias células tumorales, células que colaboran en el reclutamiento de vasculatura para el tumor, y células que proporcionan ligandos, factores de crecimiento, o contrarreceptores que sostienen o promueven el crecimiento tumoral o la supervivencia tumoral. En algunas realizaciones, cuando la función efectora es deseable, se selecciona un anticuerpo que comprende una cadena pesada de IgG1 humana o una cadena pesada de IgG3 humana.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en la presente se altera para aumentar o disminuir el grado en que el anticuerpo es glicosilado. La adición o delección de sitios de glicosilación en un anticuerpo se puede lograr fácilmente alterando la secuencia de aminoácidos de forma tal que se crean o se eliminan uno o varios sitios de glicosilación.

Cuando el anticuerpo comprende una región Fc, se puede alterar el carbohidrato unido a esta. Los anticuerpos nativos producidos por células de mamíferos generalmente comprenden un oligosacárido biantenarico, ramificado, que generalmente está unido por un enlace N a Asn297 o al dominio CH2 de la región Fc. Ver, por ejemplo, Wright *et al.* *TIBTECH* 15:26-32 (1997). El oligosacárido puede incluir varios carbohidratos, por ejemplo, manosa, N-acetil glucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, como así también una fucosa unida a un GlcNAc en el "tallo" de la estructura del oligosacárido biantenarico. En algunas realizaciones, se pueden realizar modificaciones al oligosacárido en un anticuerpo de la invención para crear anticuerpos con ciertas propiedades mejoradas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un anticuerpo puede estar afucosilado, por ejemplo, mediante la mutación de

residuos tales como Asn297 que normalmente están glicosilados con glicosilaciones que contienen fucosa, o por otros medios. En algunas realizaciones, los anticuerpos de la presente pueden comprender una región constante de IgG1 humana afucosilada.

5 A los anticuerpos se les proporcionan además oligosacáridos bisectados, por ejemplo, en los que un oligosacárido biantenarico unido a la región Fc del anticuerpo es bisectado mediante GlcNAc. Tales anticuerpos pueden tener fucosilación reducida y/o función ADCC mejorada. Los ejemplos de tales anticuerpos están descriptos, por ejemplo, en WO 2003/011878 (Jean-Mairet *et al.*); Patente de los EE.UU. Nro. 6.602.684 (Umana *et al.*); y US 10 2005/0123546 (Umana *et al.*). También se proporcionan anticuerpos con al menos un residuo de galactosa en el oligosacárido unido a la región Fc. Dichos anticuerpos pueden tener una función CDC mejorada. Tales anticuerpos están descriptos, por ejemplo, en WO 1997/30087 (Patel *et al.*); WO 1998/58964 (Raju, S.) y WO 1999/22764 (Raju, S.).

15 También se proporcionan anticuerpos con extensiones líder amino-terminal. Por ejemplo, uno o más residuos de aminoácidos de la secuencia líder amino-terminal están presentes en el amino-terminal de una cualquiera o varias de las cadenas pesadas o ligeras del anticuerpo. Un ejemplo de extensión líder amino-terminal comprende o consiste en tres residuos de aminoácidos, VHS, presentes en una o ambas cadenas ligeras de un anticuerpo.

20 Se puede ensayar, *in vivo* o en suero, la semivida de polipéptidos humanos con alta afinidad de unión a FcRn, por ejemplo, en ratones transgénicos, en seres humanos o en primates no humanos a los cuales se les administran los polipéptidos con una región Fc variante. Ver también, por ejemplo, Petkova *et al. International Immunology* 18(12):1759-1769 (2006).

25 En algunas realizaciones de la invención, un anticuerpo afucosilado interviene en la ADCC en presencia de células efectoras humanas más eficazmente que un anticuerpo original que comprende fucosa. Generalmente, la actividad ADCC se puede determinar usando el ensayo ADCC *in vitro* como se divulga en la presente, pero están contemplados otros ensayos o métodos para determinar la actividad ADCC, por ejemplo, en un modelo animal, etc.

30 En ciertas realizaciones, la región Fc es alterada al reemplazar al menos un residuo aminoácido con un residuo aminoácido diferente para alterar la(s) función(es) efectora(s) del anticuerpo. Por ejemplo, uno o más aminoácidos seleccionados entre los residuos

35

aminoácidos 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320, 322, 330 y/o 331 se pueden reemplazar con un residuo aminoácido diferente de modo tal que el anticuerpo tiene una afinidad alterada por un ligando efector, pero retiene la capacidad de unión a antígeno del anticuerpo original. El ligando efector al cual se le alteró la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor Fc o el componente C1 del complemento. Esta estrategia se describe con mayor detalle en las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.624.821 y 5.648.260, ambas de Winter *et al.*

En algunos ejemplos, uno o más aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 329, 331 y 322 se pueden reemplazar con un residuo de aminoácido diferente tal que el anticuerpo tenga unión modificada a C1q y/o complemento dependiente de citotoxicidad (CDC) reducido o eliminado. Esta estrategia se describe con mayor detalle en la Patente de los EE.UU. Nro. 6.194.551 de Idusogie *et al.*

En algunos ejemplos, se alteran uno o varios residuos de aminoácidos dentro de las posiciones de aminoácidos 231 y 239 para alterar así la capacidad de anticuerpo de fijarse al complemento. Esta estrategia se describe con mayor detalle en la Publicación PCT WO 94/29351 de Bodmer *et al.* En algunos ejemplos, la región Fc se puede modificar para disminuir la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o disminuir la afinidad por un receptor Fcγ al modificar uno o más aminoácidos en las siguientes posiciones: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 o 439. Las sustituciones ejemplares incluyen 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D y 332E. Las variantes ejemplares incluyen 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T y 267E/268F/324T. Otras modificaciones Fc que se pueden realizar a los Fc son aquellas que reducen o extirpan la unión a FcγR y/o proteínas del complemento, con lo cual se reducen o extirpan las funciones efectoras mediadas por Fc tales como ADCC, ADCP y CDC. Las modificaciones ejemplares incluyen, entre otras, sustituciones, inserciones y deleciones en las posiciones 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325, 328, 330 y/o 331 (por ejemplo, 330 y 331), donde la numeración es acorde con el Índice de la UE. Las sustituciones ejemplares incluyen, entre otras, 234A, 235E, 236R, 237A, 267R, 269R, 325L, 328R, 330S y 331S (por ejemplo,

330S y 331S), donde la numeración es acorde con el Índice de la UE. Un Fc variante puede comprender 236R/328R. Otras modificaciones para reducir FcγR e interacciones con el complemento incluyen las sustituciones 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331 S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P y 234V, como así también la remoción de glicosilación en la posición 297 por medios mutacionales o enzimáticos o por la producción en organismos tales como bacterias que no glucosinan proteínas. Estas y otras modificaciones se comentan en Strohl 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691. Por ejemplo, la región constante de Fc de IgG1.3 contiene sustituciones L234A, L235E y G237A. La IgG1fa.P238K (o IgG1.P238K) contiene una sustitución P238K. La IgG1.1f comprende sustituciones L234A, L235E, G237A, A330S y P331S.

También se pueden utilizar variantes de Fc que aumentan la afinidad por un receptor inhibitor FcγRIIb. Tales variantes pueden proporcionar una proteína de fusión Fc con actividades inmunomoduladoras relacionadas con células FcγRIIb, inclusive, por ejemplo, células B y monocitos. En una realización, las variantes de Fc proporcionan selectividad aumentada a FcγRIIb en relación con uno o más receptores activadores. Las modificaciones para alterar la unión a FcγRIIb incluyen una o más modificaciones en una posición seleccionada del grupo que consiste en 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328, 330, 331 y 332, de acuerdo con el Índice de la UE. Las sustituciones ejemplares para aumentar la afinidad por FcγRIIb incluyen, entre otras, 234A, 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235E, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237A, 237D, 237N, 239D, 239E, 266M, 267D, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328W, 328Y, 330S, 331S y 332E. Las sustituciones ejemplares incluyen 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W y 328Y. Otras variantes de Fc para aumentar la unión a FcγRIIb incluyen 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E y 267E/328F.

Otras modificaciones para aumentar FcγR e interacciones con el complemento incluyen, entre otras, las sustituciones 298 A, 333A, 334A, 326A, 2471, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 3051 y 396L. Estas y otras modificaciones se comentan en Strohl 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691. Las modificaciones Fc que aumentan la unión a un receptor Fcγ incluyen modificaciones de aminoácidos en una cualquiera o varias de las posiciones de aminoácidos 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 279, 280, 283, 285, 298, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296,

298, 301, 303, 305, 307, 312, 315, 324, 327, 329, 330, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 379, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 o 439 de la región Fc, donde la numeración de los residuos en la región Fc es la del Índice de la UE como en la Publicación de Patente Nro. WO 00/42072.

Opcionalmente, la región Fc puede comprender un residuo aminoácido de origen no natural en posiciones adicionales y/o alternativas conocidas por el experto en la técnica (ver, por ejemplo, las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.624.821; 6.277.375; 6.737.056; 6.194.551; 7.317.091; 8.101.720; Publicaciones de Patente PCX [sic] WO 00/42072; WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 y WO 06/020114).

Las afinidades y propiedades de unión de una región Fc para su ligando se pueden determinar por una variedad de métodos de ensayo *in vitro* (ensayos bioquímicos o con base inmunológica) conocidos en la técnica, inclusive, entre otros, métodos de equilibrio (por ejemplo, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), o radioinmunoensayo (RIA)), o mediante cinética (por ejemplo, análisis BIACORE), y otros métodos tales como ensayos de unión indirecta, ensayos de inhibición competitiva, transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET), electroforesis en gel y cromatografía (por ejemplo, filtración con gel). Estos y otros métodos pueden utilizar una etiqueta en uno o varios de los componentes que se examinan y/o emplear una variedad de métodos de detección que incluyen, entre otros, etiquetas cromogénicas, fluorescentes, luminiscentes o isotópicas. Una descripción detallada de las afinidades de unión y la cinética se puede encontrar en Paul, W. E., ed., Fundamental immunology, 4ta. Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999), que pone el foco en interacciones anticuerpo-inmunógeno.

En algunas realizaciones, el anticuerpo es modificado para aumentar su semivida biológica. Diferentes enfoques son posibles. Por ejemplo, esto se puede hacer aumentando la afinidad de unión de la región Fc para FcRn, por ejemplo, se pueden mutar uno o varios de los siguientes residuos: 252, 254, 256, 433, 435, 436, según se describe en la Pat. de los EE.UU. Nro. 6.277.375. Las sustituciones ejemplares específicas incluyen una o varias de las siguientes: T252L, T254S y/o T256F. Alternativamente, para aumentar la semivida biológica, el anticuerpo se puede modificar dentro de la región CH1 o CL para contener un epítipo de unión a receptor salvaje tomado de dos bucles de un dominio CH2 de una región Fc de una

IgG, según se describe en las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.869.046 y 6.121.022 por Presta *et al.* Otras variantes ejemplares que aumentan la unión a FcRn y/o mejoran las propiedades farmacocinéticas incluyen sustituciones en las posiciones 259, 308, 428 y 434, inclusive, por ejemplo, 259I, 308F, 428L, 428M, 434S, 434I 1. 434F, 434Y y 434X1. Otras variantes que aumentan la unión de Fc a FcRn incluyen: 250E, 250Q, 428 L, 428F, 250Q/428L (Hinton *et al.* 2004, *J. Biol. Chem.* 279(8): 6213-6216, Hinton *et al.* 2006 *Journal of Immunology* 176:346-356), 256A, 272A, 286A, 305A, 307A, 307Q, 31 1A, 312A, 376A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields *et al.*, *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252T, 252Y, 252W, 254T, 256S, 256R, 256Q, 256E, 256D, 256T, 309P, 31 1 S, 433R, 433S, 433I, 433P, 433Q, 434H, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H, 308T/309P/311S (Dall'Acqua *et al. Journal of Immunology*, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua *et al.*, 2006, *Journal of Biological Chemistry* 281:23514-23524). Otras modificaciones para modular la unión a FcRn se describen en Yeung *et al.*, 2010, *J Immunol*, 182:7663-7671.

En ciertas realizaciones, se pueden usar isotipos híbridos de IgG con características biológicas particulares. Por ejemplo, una variante híbrida IgG1/IgG3 se puede construir al sustituir las posiciones IgG1 en la región CH2 y/o CH3 con los aminoácidos de IgG3 en las posiciones donde difieren los dos isotipos. Así, se puede construir un anticuerpo híbrido de variante de IgG que comprende una o más sustituciones, por ejemplo, 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R y 436F. En algunas realizaciones descritas en la presente, una variante híbrida IgG1/IgG2 se puede construir al sustituir las posiciones IgG2 en la región CH2 y/o CH3 con los aminoácidos de IgG1 en las posiciones donde difieren los dos isotipos. Por lo tanto, se puede construir un anticuerpo híbrido de variante de IgG que comprende una o varias sustituciones, por ejemplo, una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: 233E, 234L, 235L, -236G (se refiere a la inserción de una glicina en la posición 236) y 327A.

Asimismo, los sitios de unión en IgG1 humana para FcγRI, FcγRII, FcγRIII y FcRn han sido mapeados y se han descrito variantes con unión mejorada (ver Shields, R.L. *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591-6604). Se mostró que mutaciones específicas en las posiciones 256, 290, 298, 333, 334 y 339 mejoran la unión a FcγRIII. Adicionalmente, se mostró que los siguientes mutantes de combinación mejoran la unión a FcγRIII: T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A y S298A/E333A/K334A, de los que se mostró que exhiben

unión mejorada a FcγRIIIa y actividad ADCC (Shields *et al.*, 2001). Se han identificado otras variantes de IgG1 con unión fuertemente aumentada a FcγRIIIa, inclusive variantes con mutaciones S239D/I332E y S239D/I332E/A330L que mostraron el mayor aumento en la afinidad para FcγRIIIa, una disminución en la unión a FcγRIIb, y potente actividad citotóxica en monos cinomolgos (Lazar *et al.*, 2006). La introducción de mutaciones triples en anticuerpos tales como alemtuzumab (específico para CD52), trastuzumab (específico para HER2/neu), rituximab (específico para CD20), y cetuximab (específico para EGFR) se tradujeron en actividad ADCC *in vitro* aumentada en gran medida, y la variante S239D/I332E mostró una capacidad aumentada para agotar células B en monos (Lazar *et al.*, 2006). Además, se han identificado mutantes de IgG1 que contienen las mutaciones L235V, F243L, R292P, Y300L y P396L que exhibieron unión mejorada a FcγRIIIa y concomitantemente actividad ADCC mejorada, en ratones transgénicos que expresan FcγRIIIa humana en modelos de tumores malignos de células B y cáncer de mama (Stavenhagen *et al.*, 2007; Nordstrom *et al.*, 2011). Otros mutantes de Fc que se pueden usar incluyen: S298A/E333A/L334A, S239D/I332E, S239D/I332E/A330L, L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L y M428L/N434S.

En ciertas realizaciones, se elige un Fc que tiene unión reducida a FcγRs. Un Fc ejemplar, por ejemplo, Fc IgG1, con unión reducida a FcγR comprende las tres sustituciones de aminoácidos a continuación: L234A, L235E y G237A.

En ciertas realizaciones, se elige un Fc que tiene fijación a complemento reducida. Un Fc ejemplar, por ejemplo, Fc IgG1, con fijación a complemento reducida tiene las dos sustituciones de aminoácidos a continuación: A330S y P331S.

En ciertas realizaciones, se elige un Fc que esencialmente no tiene función efectora, es decir, tiene unión reducida a FcγRs y fijación a complemento reducida. Un Fc ejemplar, por ejemplo, Fc IgG1, que no es efector comprende las cinco mutaciones a continuación: L234A, L235E, G237A, A330S y P331S.

Cuando se usa un dominio constante IgG4, este puede incluir la sustitución S228P, que imita la secuencia bisagra en IgG1 y por lo tanto estabiliza las moléculas de IgG4.

También se pueden usar las modificaciones Fc descritas en WO 2017/087678 o WO2016081746.

En ciertas realizaciones, se modifica la glicosilación de un anticuerpo. Por ejemplo,

se puede realizar un anticuerpo aglicosilado (es decir, el anticuerpo carece de glicosilación). La glicosilación se puede alterar, por ejemplo, para aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno. Tales modificaciones de carbohidratos se pueden lograr, por ejemplo, alterando uno o varios sitios de glicosilación dentro de la secuencia del anticuerpo. Por ejemplo, se pueden realizar una o más sustituciones de aminoácidos que resultan en la eliminación de uno o varios sitios de glicosilación de la estructura de las regiones variables para así eliminar la glicosilación en ese sitio. Dicha aglicosilación puede aumentar la afinidad del anticuerpo por el antígeno. Esta estrategia se describe con mayor detalle en las Patentes de los EE.UU. Nro. 5.714.350 y 6.350.861 por Co *et al.*

La glicosilación de la región constante en N297 se puede evitar al mutar el residuo N297 a otro residuo, por ejemplo, N297A, y/o al mutar un aminoácido adyacente, por ejemplo, 298 para así reducir la glicosilación en N297.

Además, o alternativamente, se puede hacer un anticuerpo que tiene un tipo de glicosilación alterado, tal como un anticuerpo hipofucosilado que tiene cantidades reducidas de residuos fucosilo o un anticuerpo que tiene estructuras bisectadas por GlcNac aumentadas. Se ha demostrado que tales patrones de glicosilación alterados aumentan la capacidad ADCC de los anticuerpos. Dichas modificaciones de carbohidratos se pueden lograr, por ejemplo, mediante la expresión del anticuerpo en una célula hospedera con maquinaria de glicosilación alterada. Las células con maquinaria de glicosilación alterada se han descrito en la técnica y se pueden usar como células hospederas en las cuales expresar los anticuerpos recombinantes descritos en la presente para así producir un anticuerpo con glicosilación alterada. Por ejemplo, el documento EP 1.176.195 por Hanai *et al.* describe una línea celular con un gen FUT8 que presenta una alteración funcional, que codifica una fucosil transferasa, de modo que los anticuerpos expresados en tal célula exhiben hipofucosilación. La Publicación PCT WO 03/035835 por Presta describe una variante de línea celular CHO, células Led 3, con capacidad reducida para unir fucosa a carbohidratos ligados a Asn (297), resultando también en la hipofucosilación de los anticuerpos expresados en esas células hospederas (ver también Shields, R.L. *et al.* (2002) *J. Biol. Chem.* 277:26733-26740). La Publicación PCT WO 99/54342 por Umana *et al.* describe líneas celulares modificadas genéticamente para expresar glicosil transferasas que modifican glicoproteínas (por ejemplo, beta(1,4)-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII)) tal que los anticuerpos expresados en las

líneas celulares modificadas genéticamente exhiben estructuras aumentadas de GlcNac de bisección lo que resulta en el aumento de la actividad ADCC de los anticuerpos (ver también Umana *et al.* (1999) *Nat. Biotech.* 17: 176-180).

Otra modificación de los anticuerpos descritos en la presente es la pegilación. Un anticuerpo se puede pegar, por ejemplo, para aumentar la semivida biológica (por ejemplo, en suero) del anticuerpo. Para pegar un anticuerpo, generalmente se hace reaccionar el anticuerpo o un fragmento de este, con polietilenglicol (PEG), tal como un éster reactivo o aldeído derivado de PEG, en condiciones en las que uno o varios grupos PEG quedan unidos al anticuerpo o al fragmento de anticuerpo. En algunas realizaciones, la pegilación se lleva a cabo mediante una reacción de acilación o una reacción de alquilación con una molécula PEG reactiva (o un polímero reactivo soluble en agua análogo). Como se usa en la presente, se considera que el término "polietilenglicol" abarca cualquiera de las formas de PEG que se han utilizado para derivar otras proteínas, tales como mono (Cl-CIO) alcoxi o ariloxi-polietilenglicol o polietilenglicol-maleimida. En ciertas realizaciones, el anticuerpo a pegar es un anticuerpo aglicosilado. Los métodos para pegar proteínas son conocidos en la técnica y se pueden aplicar a los anticuerpos descritos en la presente. Ver, por ejemplo, EP 0 154 316 por Nishimura *et al.* y EP 0 401 384 por Ishikawa *et al.*

Las realizaciones de anticuerpos ejemplares específicas en la presente se listan adicionalmente en las siguientes secciones.

Realizaciones relacionadas con el anticuerpo 21D9.e:

Realización 1: Un anticuerpo aislado ("Ab") que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70.

Realización 2: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano, en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las

SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el anticuerpo estimula la activación de linfocitos T (o potencia una respuesta de linfocitos T), por ejemplo, (i) en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR), como se evidencia, por ejemplo, por la mejora de la proliferación de linfocitos T o secreción de IFN-gamma o producción de TNF-alfa, o (ii) en un linfocito T: ensayo de CHO-OKT3-ILT4 (por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 5).

Realización 3: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab mejora la activación de linfocitos T en un monocito: MLR alo de linfocitos T.

Realización 4: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab mejora la secreción de IFN-gamma de PBMC tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de citomegalovirus (CMV).

Realización 5: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano, en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el anticuerpo potencia la secreción de TNF-alfa de macrófagos, por ejemplo, macrófagos diferenciados.

Realización 6: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el anticuerpo aumenta la expresión de CD83 y/o CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC).

Realización 7: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano, en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el anticuerpo inhibe la unión de hILT4 a un linfocito T y/o a un auxiliar de unión, por ejemplo, HLA-A y/o HLA-B.

Realización 8: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab (a) se une al dominio tipo Ig1 de hILT4 y/o la región de hILT4 que comprende ⁷⁰ITRIRPEL⁷⁷ (SEQ ID NO: 120) y/o ⁷⁸VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 121) y/o ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122), como se determina por HDX; y/o (b) interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Lys43, Ile49, Thr50 y Arg51 de hILT4 maduro, como se determina por impresión de huella de carbono.

Realización 9: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157,

respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab inhibe la unión de (o compite con) un anticuerpo que comprende a HC que comprende la SEQ ID NO: 12 o 13 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 11 y/o inhibe la unión de un anticuerpo que comprende el VH y VL de 21D9.IgG1.1f y/o 21D9.e.IgG1.3, a hILT4.

Realización 10: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab se une a hILT4 con una KD de 10^{-8} M o 10^{-9} M o menos.

Realización 11: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab se une a hILT4 cyno con una KD de 10^{-7} M o 10^{-8} M o menos y/o promueve la expresión de CD80, CD83 y/o CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos cyno.

Realización 12: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab no se une significativamente a las proteínas humanas LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA6, ILT2, ILT3, ILT5 o LIR8.

Realización 13: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab promueve la polarización proinflamatoria de macrófagos hacia macrófagos M1.

Realización 14: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab no induce (o desencadena) la activación de basófilos.

Realización 15: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde una composición que comprende el Ab comprende menos de 5% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 25°C y/o menos de 10% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 40°C.

Realización 16: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70, en donde el Ab comprende una región constante de cadena pesada IgG, por ejemplo,

una IgG1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 98 o 102), IgG1.1f (SEQ ID NO: 103), IgG1.3 (SEQ ID NO: 100), IgGP238K (SEQ ID NO: 104), IgG4 o IgG4.S228P (SEQ ID NO: 179).

Realización 17: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 11, en donde, opcionalmente, la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 18: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende dos cadenas pesadas, cada cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 13, y dos cadenas ligeras, cada cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 11, en donde, opcionalmente una o ambas cadenas pesadas comprenden una lisina de extremo C.

Realización 19: anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 11, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C, y en donde el Ab comprende al menos un enlace de disulfuro que enlaza las cadenas pesadas.

Realización 20: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 176 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 11, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 21: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 177 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 11, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 22: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 178 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 11, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 23: Un ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-22.

Realización 24: Una célula huésped para producir cualquiera de los anticuerpos de las realizaciones 1-22, por ejemplo, que comprende el ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos de la realización 23.

Realización 25: Un método para tratar cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis terapéuticamente efectiva del anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-22, o de un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una

5 cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70 y/o (iii) la cadena pesada

10 comprende la SEQ ID NO: 13 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 11.

Realización 26: Un método para tratar cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis terapéuticamente efectiva de:

(A) (1) el anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-19, o (2) un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en

15 donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que

20 comprende la SEQ ID NO: 70 y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 13 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 11, y (B) un antagonista de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 humano o PD-L1 humano, por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimab, atezolizumab, durvalumab o avelumab.

25

Realización 27: una composición que comprende:

(A) (1) el anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-19, o (2) un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en

30 donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 155, 156, y 157, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 158, 159 y 160, respectivamente; (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 70 y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 13 y la

35 cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 11 y

(B) un antagonista de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 humano o PD-L1 humano, por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimab, atezolizumab, durvalumab o avelumab.

Realizaciones relacionadas con el anticuerpo 21D5.a:

Realización 1: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86.

Realización 2: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el anticuerpo estimula la activación de linfocitos T (o potencia una respuesta de linfocitos T), por ejemplo, (i) en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR), como se evidencia, por ejemplo, por la mejora de la proliferación de linfocitos T o secreción de IFN-gamma o producción de TNF-alfa, o (ii) en un linfocito T: ensayo de CHO-OKT3-ILT4 (por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 5).

Realización 3: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab mejora la activación de linfocitos T en un monocito: MLR alo de linfocitos T.

Realización 4: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el

Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab mejora la secreción de IFN-gamma de PBMC tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de CMV.

Realización 5: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el anticuerpo potencia la secreción de TNF-alfa de macrófagos, por ejemplo, macrófagos diferenciados.

Realización 6: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el anticuerpo aumenta la expresión de CD83 y/o CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos (Mo-DC).

Realización 7: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el anticuerpo inhibe la unión de hILT4 a un linfocito T y/o a un auxiliar de unión, por ejemplo, HLA-A y/o HLA-B.

Realización 8: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab (a) se une al dominio tipo Ig 2 de hILT4 y/o la región de hILT4 que comprende : ¹⁵⁴ILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123) y/o ⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124) , como se determina por HDX; y/o (b) interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Gly117, Val119, Try120, Leu134, Lys136, Gln149, Pro150, Ile159, Ser161, Val162 ,Gly163, Pro164, Pro167, His173, Try178, Pro183 y Tyr184 de hILT4 maduro, como se determina por impresión de huella de carbeno.

Realización 9: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab inhibe la unión de (o compite con) un anticuerpo que comprende a HC que comprende la SEQ ID NO: 15 o 17 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 14 o 16, respectivamente, y/o inhibe la unión de un anticuerpo que comprende el VH y VL de 21D5 o 21D5.a, a hILT4.

Realización 10: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab se une a hILT4 con una KD de 10^{-8} M o 10^{-9} M o menos.

Realización 11: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada

comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab se une a hILT4 cyno con una KD de 10^{-7} M o 10^{-8} M o menos y/o promueve la expresión de CD80, CD83 y/o CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos cyno.

Realización 12: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab no se une significativamente a las proteínas humanas LILRA1, LILRA2, LILRA4, LILRA5, LILRA6, ILT2, ILT3, ILT5 o LIR8.

Realización 13: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab promueve la polarización proinflamatoria de macrófagos hacia macrófagos M1.

Realización 14: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab no induce (o desencadena) la activación de basófilos.

Realización 15: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el

Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde una composición que comprende el Ab comprende menos de 5% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 25°C y/o menos de 10% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 40°C.

Realización 16: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86, en donde el Ab comprende una región constante de cadena pesada IgG, por ejemplo, una IgG1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 98 o 102), IgG1.1f (SEQ ID NO: 103), IgG1.3 (SEQ ID NO: 100), IgGP238K (SEQ ID NO: 104), IgG4 o IgG4.S228P (SEQ ID NO: 179).

Realización 17: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 16, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 18: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende dos cadenas pesadas, cada cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 17, y dos cadenas ligeras, cada cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 16, en donde, opcionalmente una o ambas cadenas pesadas comprenden una lisina de extremo C.

Realización 19: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 16, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C, y en donde el Ab comprende al menos un enlace de disulfuro que enlaza las cadenas pesadas.

Realización 20: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende

una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 15 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 14, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

5 Realización 21: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 17 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 16, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

10 Realización 22: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 15 o 17 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 14 o 16, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

15 Realización 23: Un ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-22.

Realización 24: Una célula huésped para producir cualquiera de los anticuerpos de las realizaciones 1-22, por ejemplo que comprende el ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos de la realización 23.

20 Realización 25: Un método para tratar cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis terapéuticamente efectiva de un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que
25 comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86 y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 17 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 16.

30 Realización 26: Un método para tratar cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis terapéuticamente efectiva de (A) un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que
35 comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada

comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86 y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 17 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 16, y (B) un antagonista de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 humano o PD-L1 humano, por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimab, atezolizumab, durvalumab o avelumab.

Realización 27: una composición que comprende (A) un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 161, 162 y 163, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 164, 165 y 166, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 87 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 86 y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 17 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 16, y (B) un antagonista de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 humano o PD-L1 humano, por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimab, atezolizumab, durvalumab o avelumab.

Realizaciones relacionadas con los anticuerpos 10F10, 10F10.1, 10F10.3 y 10F10.4:

Realización 1: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114.

Realización 2: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID

NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el anticuerpo estimula la activación de linfocitos T (o potencia una respuesta de linfocitos T), por ejemplo, (i) en un ensayo de reacción mixta de linfocitos alo (MLR), como se evidencia, por ejemplo, por la mejora de la proliferación de linfocitos T o secreción de IFN-gamma o producción de TNF-alfa, o (ii) en un linfocito T: ensayo de CHO-OKT3-ILT4 (por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 5).

Realización 3: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab mejora la activación de linfocitos T en un monocito: MLR alo de linfocitos T.

Realización 4: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab mejora la secreción de IFN-gamma de PBMC tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de CMV.

Realización 5: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab inhibe la unión de hILT4 a un linfocito T y/o a un auxiliar de unión, por ejemplo, HLA-A y/o HLA-B.

Realización 6: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada

comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el anticuerpo potencia la secreción de TNF-alfa de macrófagos, por ejemplo, macrófagos diferenciados.

Realización 7: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el anticuerpo aumenta la expresión de CD83 y/o CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC).

Realización 8: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab (i) se une al dominio tipo Ig2 de hILT4, cerca del dominio tipo Ig 1, y/o (ii) interactúa con uno o más (o todos) residuos aminoácidos Glu42, Lys43, Gly76, Cys77, Leu88, Pro91, Pro183 y Tyr184 de hILT4 maduro, como se determina por impresión de huella de carbeno.

Realización 9: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab inhibe la unión de (o compite con) un anticuerpo que

comprende a HC que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21, o 116, respectivamente, y/o inhibe la unión de un anticuerpo que comprende el VH y VL de 10F10, 10F10.1, 10F10.3 y/o 10F10.4, a hILT4.

5 Realización 10: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que
10 comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab se une a hILT4 con una KD de 10^{-8} M o 10^{-9} M o menos.

Realización 11: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada
15 comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab se une a hILT4 cyno con una KD de 10^{-7} M o 10^{-8} M o
20 menos y/o promueve la expresión de CD80, CD83 y/o CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos cyno.

Realización 12: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada
25 comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab promueve la polarización proinflamatoria de macrófagos
30 hacia macrófagos M1.

Realización 13: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada
35 comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las

SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab no induce (o desencadena) la activación de basófilos.

Realización 14: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde una composición que comprende el Ab comprende menos de 5% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 25°C y/o menos de 10% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 40°C.

Realización 15: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab no se une significativamente a las proteínas humanas LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA5, LILRA6, ILT2, ILT3, ILT5 o LIR8.

Realización 16: Un anticuerpo aislado que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, en donde el Ab comprende una región constante de cadena pesada IgG, por ejemplo, una IgG1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 98 o 102), IgG1.1f (SEQ ID NO: 103), IgG1.3 (SEQ ID NO: 100), IgGP238K (SEQ ID NO: 104), IgG4 o IgG4.S228P (SEQ ID NO: 179).

Realización 17: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21 o 116, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 18: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21 o 116, en donde, opcionalmente una o ambas cadenas pesadas comprenden una lisina de extremo C.

Realización 19: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21 o 116, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C, y en donde el Ab comprende al menos un enlace de disulfuro que enlaza las cadenas pesadas.

Realización 20: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 18, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 21: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 20, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 22: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 21, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 23: Un anticuerpo aislado que se une a hILT4, en donde el Ab comprende una cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 19 y una cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 116, en donde, opcionalmente la cadena pesada comprende una lisina de extremo C.

Realización 24: Un ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos que codifica el anticuerpo de cualquiera de las realizaciones 1-23.

Realización 25: Una célula huésped para producir cualquiera de los anticuerpos de las realizaciones 1-23, por ejemplo, que comprende el ácido nucleico aislado o conjunto de ácidos nucleicos de la realización 24.

Realización 26: Un método para tratar cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis terapéuticamente efectiva de un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 19 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21 o 116.

Realización 27: Un método para tratar cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una dosis terapéuticamente efectiva de un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 19 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21 o 116, y (B) un antagonista de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 humano o PD-L1 humano, por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimab, atezolizumab, durvalumab o avelumab.

Realización 28: una composición que comprende (A) un anticuerpo que se une a ILT4 humano (hILT4), en donde el Ab comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde (i) la cadena pesada comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VH que comprende las SEQ ID Nos: 167, 168 y 169, respectivamente, y la cadena ligera comprende CDR1, CDR2 y CDR3 VL que comprende las SEQ ID Nos: 170, 171 y 172, respectivamente, y/o (ii) la cadena pesada comprende el VH que comprende la SEQ ID NO: 91 y la cadena ligera comprende VL que comprende la SEQ ID NO: 90, 94, 96 o 114, y/o (iii) la cadena pesada comprende la SEQ

ID NO: 19 y la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 18, 20, 21 o 116, y (B) un antagonista de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 humano o PD-L1 humano, por ejemplo, nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, toripalimab, sintilimab, atezolizumab, durvalumab o avelumab.

Ácidos nucleicos y células hospederas

También se proporcionan ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo o una cadena ligera o pesada de este o una porción de este. En la Tabla de Secuencias se proporcionan ejemplos de ácidos nucleicos. La presente abarca cualquier ácido nucleico que es al menos 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% idéntico a un ácido nucleico en la Tabla de Secuencias. También se incluyen las composiciones que comprenden ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo proporcionado en la presente, como las células que los comprenden y métodos para preparar anticuerpos, que comprenden el cultivo de una célula transformada con un ácido nucleico que codifica un anticuerpo ILT4, y aislar el anticuerpo del medio de cultivo o la célula.

Métodos de tratamiento que usan Ab que se unen a ILT4 y composiciones farmacéuticas relacionadas

Los anticuerpos descriptos en la presente se pueden usar, por ejemplo, para tratar el cáncer. En algunas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar el cáncer, que comprenden administrar una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en la presente a un paciente. En algunas realizaciones, los Ab pueden desencadenar o aumentar una respuesta inmunitaria en el paciente, tal como una respuesta inmunitaria específica a un antígeno. En algunas realizaciones, los Ab pueden estimular la actividad de las células T. En algunas realizaciones, los Ab pueden inhibir el crecimiento de al menos un tumor en el paciente.

En la presente se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene cáncer, que comprende en administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo ILT4 descrito en la presente, de modo que el sujeto es tratado. Un anticuerpo ILT4 se puede usar solo. Alternativamente, un anticuerpo ILT4 se puede usar en conjunción con otro agente, como se describe más adelante.

Los cánceres pueden ser tumores sólidos o neoplasias hematológicas (tumores líquidos).

Los ejemplos no limitantes de cánceres para tratamiento incluyen carcinoma celular escamoso, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas escamoso (NSCLC), NSCLC no escamoso, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células claras), cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC)), cáncer de próstata (por ejemplo, adenocarcinoma de próstata refractario a tratamiento hormonal), cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer pancreático, glioblastoma (glioblastoma multiforme), cáncer cervical, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, carcinoma de colon, y cáncer (o carcinoma) de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma nasal de células T NK, melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico, tal como melamoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer de huesos, cáncer de piel, cáncer de útero, cáncer de la región anal, cáncer testicular, carcinoma de las trompas de falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de glándula paratiroides, cáncer de glándula adrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, tumores sólidos de la infancia, cáncer de ureter, carcinoma de pelvis renal, neoplasma del sistema nervioso central (CNS), linfoma CNS primario, angiogénesis tumoral, tumor de la columna vertebral, cáncer de cerebro, glioma del tronco encefálico, adenoma de glándula pituitaria, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas, linfoma de células T, cánceres inducidos por el medioambiente, inclusive los inducidos por asbestos, cánceres relacionados con virus o cánceres de origen viral (por ejemplo, el virus del papiloma humano (tumores relacionados u originados por HPV)), y neoplasias hematológicas derivadas de los dos principales linajes de células sanguíneas, es decir, la línea celular mieloide (que produce granulocitos, eritrocitos, trombocitos, macrófagos y mastocitos) o la línea celular linfoide (que produce células B, T, NK y plasmáticas), tales como todos los tipos de leucemia, linfomas y mielomas, por ejemplo, leucemia aguda, crónica, linfocítica y/o mielógena, tal como leucemia aguda (ALL), leucemia aguda mielógena (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), AML indiferenciada (MO), leucemia mieloblástica (MI), leucemia mieloblástica (M2; con maduración celular), leucemia promielocítica (M3 o M3 variante [M3V]), leucemia

mielomonocítica (M4 o M4 variante con eosinofilia [M4E]), leucemia monocítica (M5), eritroleucemia (M6), leucemia megacarioblástica (M7), sarcoma granulocítico aislado, y cloroma; linfomas, tales como linfoma de Hodgkin (HL), linfoma no Hodgkin (NHL), neoplasia hematológica de células B, por ejemplo, linfomas de células B, linfomas de células T, linfoma linfoplasmacitoide, linfoma monocitoide de células B, linfoma de tejido linfoide asociado a mucosa (MALT), linfoma anaplásico de células grandes (por ejemplo, Ki 1+), linfoma/leucemia de células T del adulto, linfoma de células del manto, linfoma de células T angioinmunoblástico, linfoma angiocéntrico, linfoma intestinal de células T, linfoma primario mediastinal de células B, linfoma linfoblástico precursor de células T, linfoblástico T; y linfoma/leucemia (T-Lbly/T-ALL), linfoma periférico de células T, linfoma linfoblástico, trastorno linfoproliferativo post-transplante, linfoma histiocítico verdadero, linfoma primario del sistema nervioso central, linfoma efusivo primario, linfoma de células B, linfoma linfoblástico (LBL), tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, leucemia linfoblástica aguda, linfoma difuso de células B grandes, linfoma de Burkitt, linfoma folicular, linfoma histiocítico difuso (DHL), linfoma inmunoblástico de células grandes, linfoma linfoblástico precursor de células B, linfoma cutáneo de células T (CTLC) (también llamado micosis fungoide o síndrome de Sezary), y linfoma linfoplasmacitoide (LPL) con macroglobulinemia de Waldenstrom; mielomas, tales como mieloma de IgG, mieloma de cadena ligera, mieloma no secretor, mieloma latente (también llamado mieloma indolente), plasmocitoma solitario, y mielomas múltiples, leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de células vellosas; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, tumores de origen mesenquimal, inclusive fibrosarcoma y rabdomiosarcoma; seminoma, teratocarcinoma, tumores de los nervios centrales y periféricos, inclusive astrocitoma, schwannomas; tumores de origen mesenquimal, inclusive fibrosarcoma, rabdomiosarcoma y osteosarcoma; y otros tumores, inclusive melanoma, xeroderma pigmentoso, queratoacantoma, seminoma, cáncer folicular de tiroides y teratocarcinoma, tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, por ejemplo, tumores de células T y células B, inclusive, entre otros, trastornos de células T tales como leucemia prolinfocítica de células T (T-PLL), inclusive del tipo de células pequeñas y de células cerebriformes; leucemia de linfocitos grandes granulares (LGL) del tipo células T; linfoma hepatoesplénico NHL de células T a/d; linfoma de células T postímicas/periféricas (subtipos pleomórfico e inmunoblástico); linfoma de células T angiocéntrico (nasal); cáncer de cabeza y cuello, cáncer

rectal, cáncer de la glándula tiroides; linfoma mieloide agudo, como así también cualquier combinación de estos tipos de cáncer. Los métodos descritos en la presente también se pueden usar para el tratamiento de cánceres metastásicos, no resecables, cánceres refractarios (por ejemplo, cánceres refractarios a inmunoterapia previa, por ejemplo, con un anticuerpo de bloqueo CTLA-4 o PD-1), y/u cánceres recurrentes.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente se administra a pacientes que tienen un cáncer que han exhibido una respuesta inadecuada, o progresado luego de un tratamiento previo, por ejemplo, un tratamiento previo con un fármaco inmunológico o para inmunoterapia. En algunas realizaciones, el cáncer es refractario o resistente a un tratamiento previo, ya sea intrínsecamente refractario o resistente (por ejemplo, refractario a un antagonista de la vía PD-1), o con un estado de resistencia o refractario adquirido. Por ejemplo, un anticuerpo descrito en la presente puede administrarse a sujetos que no responden o no responden suficientemente a un primer tratamiento o cuya enfermedad progresa luego del tratamiento, por ejemplo, el tratamiento con un antagonista de la vía anti-PD-1, ya sea solo o en combinación con otra terapia (por ejemplo, con una terapia antagonista de la vía anti-PD-1). En otras realizaciones, un anticuerpo descrito en la presente se administra a pacientes que no han recibido previamente un agente inmunológico (es decir, no han sido tratados con este), por ejemplo, un antagonista de la vía PD-1.

Combinaciones con agentes de estimulación inmunitaria

En algunas realizaciones, un anticuerpo como se describe en la presente, por ejemplo, un anticuerpo ILT4 descrito en la presente, se administra en combinación con al menos un agente de estimulación inmunitaria. Por ejemplo, la terapéutica se puede infundir en forma conjunta o inyectarse casi al mismo tiempo. En algunas realizaciones, el anticuerpo y el al menos un agente de estimulación inmunitaria se administran secuencialmente. Por ejemplo, en algunas realizaciones el anticuerpo se administra secuencialmente antes o después de al menos un agente de estimulación inmunitaria tal que las dos terapéuticas se administran con una separación de 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 3 días, 5 días, 7 días o dos semanas.

En algunas realizaciones, se administran al menos una, al menos dos, al menos tres

dosis, al menos cinco dosis, o al menos diez dosis del anticuerpo antes de la administración de al menos un agente de estimulación inmunitaria. En algunas realizaciones, se administran al menos una, al menos dos, al menos tres dosis, al menos cinco dosis, o al menos diez dosis de al menos un agente de estimulación inmunitaria antes de la administración del anticuerpo. En algunas realizaciones, la última dosis del agente de estimulación inmunitaria se administra al menos uno, dos, tres, cinco, días o diez, o una, dos, tres, cinco, doce o veinticuatro semanas antes de la primera dosis del anticuerpo. En algunas realizaciones, la última dosis del anticuerpo se administra al menos uno, dos, tres, cinco, días o diez, o una, dos, tres, cinco, doce o veinticuatro semanas antes de la primera dosis del agente de estimulación inmunitaria. En algunas realizaciones, un sujeto ha recibido, o está recibiendo, terapia con al menos un agente de estimulación inmunitaria y se agrega un anticuerpo ILT4 al régimen terapéutico.

En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de un inhibidor de la activación de células inmunitarias, tales como linfocitos T, mientras que en algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de un estimulador de la activación de una célula inmunitaria, tal como un linfocito T. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de CTLA4, LAG-3, PD-1, PD-L1, Galectina 1, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD25, CD69, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM1, TIM3, TIM4, IL-6, IL-10, TGF β , VEGF, KIR, receptor de adenosina A2A, PI3Kdelta o IDO. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD27, CD40, CD40L, DR3, CD28H, IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IFN α , STING, o un agonista del receptor tipo Toll tal como un agonista TLR2/4. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que se une a otro miembro de la familia B7 de proteínas unidas a membrana tales como B7-1, B7-2, B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4 y B7-H6. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que se une a un miembro de la familia de receptores TNF o una molécula co-estimulante o co-inhibidora de unión a un miembro de la familia de receptores TNF tales como CD40, CD40L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137

(4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, EDA1, EDA2, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DeR3, HVEM, VEGL/TL1A, TRAMP/DR3, TNFR1, TNF β , TNFR2, TNF α , 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY o NGF β . En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agente que antagoniza o inhibe una citocina que inhibe la activación de células T tal como IL-6, IL-10, TGF β , VEGF. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un agonista de una citocina que estimula la activación de células T tal como IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 e IFN α . En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un antagonista de una quimiocina, tal como CXCR2, CXCR4, CCR2 o CCR4. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria comprende un anticuerpo. En algunas realizaciones, el al menos un agente de estimulación inmunitaria puede comprender una vacuna, tal como una vacuna dirigida a mesotelina o una vacuna contra el cáncer con listeria atenuada tal como CRS-207.

Por ejemplo, un anticuerpo ILT4 descrito en la presente se podría administrar con uno o varios de los siguientes agentes:

(1) Un antagonista (inhibidor o agente de bloqueo) de una proteína que inhibe la activación de células T (por ejemplo, reguladores de puntos de control del sistema inmunitario), tal como CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, y LAG-3, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectina-1, TIGIT, CD113, GPR56, B7-H3, B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, TIM-3 y TIM-4; y/o (2) Un agonista de una proteína que estimula la activación de células T, tal como B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 y CD28H.

Los agentes ejemplares que se pueden combinar con anticuerpos ILT4 descritos en la presente para tratar el cáncer incluyen: YERVOY[®] (ipilimumab) o tremelimumab (para CTLA-4), galiximab (para B7.1), BMS-936558 (para PD-1), MK-3475 (para PD-1), atezolizumab (TECENTRIQ[®]), Avelumab, Durvalumab, AMP224 (para B7DC), BMS-936559 (para B7-H1), MPDL3280A (para B7-H1), MEDI-570 (para ICOS), AMG557 (para B7H2), MGA271 (para B7H3), IMP321 (para LAG-3), BMS-663513 (para CD137), PF-05082566 (para CD137), CDX-1127 (para CD27), anti-OX40 (Providence Health Services), huMAbOX40L (para OX40L), Atacicept (para TACI), CP-870893 (para CD40), Lucatumumab (para CD40),

Dacetuzumab (para CD40), Muromonab-CD3 (para CD3); anticuerpos anti-GITR MK4166, TRX518, Medi1873, INBRX-110, LK2-145, GWN-323, GITRL-Fc, o cualquier combinación de estos.

Otras moléculas que se pueden combinar con anticuerpos ILT4 para el tratamiento del cáncer incluyen antagonistas de receptores de inhibidores en células NK o agonistas de receptores de activadores en células NK, por ejemplo, antagonistas de KIR (por ejemplo, lirilumab).

La activación de células T también se puede regular mediante citocinas solubles. En algunas realizaciones, los anticuerpos ILT4 se pueden administrar en combinación con antagonistas de citocinas que están destinadas a inhibir la activación de células T o agonistas de citocinas que estimulan la activación de células T. Por ejemplo, los anticuerpos ILT4 se pueden usar en combinación con (i) antagonistas (o agentes inhibidores o de bloqueo) de proteínas de la familia IgSF o la familia B7 o de la familia TNF que inhiben la activación de células T o antagonistas de citocinas que inhiben la activación de células T (por ejemplo, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF; "citocinas inmunosupresoras") y/o (ii) agonistas de receptores de estimuladores de la familia IgSF, la familia B7 o la familia TNF o de citocinas que estimulan la activación de células T.

Aún otros agentes para terapias de combinación incluyen agentes que inhiben o agotan macrófagos o monocitos, inclusive, entre otros, antagonistas de CSF-1R tales como anticuerpos antagonistas de CSF-1R que incluyen RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, W013/87699, W013/119716, WO13/132044) o FPA-008 (WO11/140249; W013169264; WO14/036357).

Los anticuerpos ILT4 también se pueden administrar con agentes que inhiben la señalización de TGF- β .

Los agentes adicionales que se pueden combinar con un anticuerpo ILT4 incluyen agentes que aumentan la presentación del antígeno tumoral, por ejemplo, vacunas con células dendríticas, vacunas con células que secretan GM-CSF (factor estimulante de granulocitos y macrófagos), oligonucleótidos CpG, e imiquimod, o terapias que aumentan la inmunogenicidad de las células tumorales (por ejemplo, antraciclinas).

Inclusive otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo ILT4 incluyen terapias que agotan o bloquean células Treg, por ejemplo, un agente que se une

específicamente a CD25.

Otra terapia que se puede combinar con un anticuerpo ILT4 es una terapia que inhibe una enzima metabólica tal como indoleamina dioxigenasa (IDO), dioxigenasa, arginasa u óxido nítrico sintetasa.

Otras clases de agentes que se pueden usar con un anticuerpo ILT4 incluyen agentes que inhiben la formación de adenosina, por ejemplo, inhibidores de CD73, o inhiben el receptor de adenosina A2A.

Otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo ILT4 para tratar el cáncer incluyen terapias que revierten/previenen la anergia o el agotamiento de células T y terapias que desencadenan una activación inmunitaria innata y/o inflamación en un sitio tumoral.

Otras terapias que se pueden combinar con un anticuerpo ILT4 para tratar el cáncer incluyen terapias que bloquean IL-8, por ejemplo, con HuMax®-IL8.

Un anticuerpo ILT4 se puede combinar con más de un agente inmuno-oncológico, y se puede combinar, por ejemplo, con una estrategia combinatoria destinada a dirigirse a múltiples elementos de la vía inmunitaria, tal como una o varias de las siguientes: una terapia que aumenta la presentación del antígeno tumoral (por ejemplo, vacunas con células dendríticas, vacunas con células que secretan GM-CSF, oligonucleótidos CpG, imiquimod); una terapia que inhibe la regulación inmunitaria negativa, por ejemplo, inhibiendo CTLA-4 y/o la vía PD1/PD-L1/PD-L2 y/o agotando o bloqueando Tregs u otras células de supresión inmunitaria; una terapia que estimula la regulación inmunitaria positiva, por ejemplo, con agonistas que estimulan la vía CD-137, OX-40 y/o CD40 o GITR y/o estimulan la función efectora de las células T; una terapia que aumenta sistémicamente la frecuencia de células T antitumorales; una terapia que agota o inhibe Tregs, tal como Tregs en el tumor, por ejemplo, usando un antagonista de CD25 (por ejemplo, daclizumab) o mediante depleción con perlas anti-CD25 *ex vivo*; una terapia que impacta la función de células mieloides supresoras en el tumor; una terapia que aumenta la inmunogenicidad de las células tumorales (por ejemplo, antraciclinas); transferencia adoptiva de células T o células NK que incluyen células modificadas genéticamente, por ejemplo, células modificadas mediante receptores de antígenos quiméricos (terapia CAR-T); una terapia que inhibe una enzima metabólica tal como indoleamina dioxigenasa (IDO), dioxigenasa, arginasa, u óxido nítrico sintetasa ; una terapia que revierte/previene la anergia o el agotamiento de células T; una terapia que desencadena

una activación inmunitaria innata y/o inflamación en un sitio tumoral; administración de citocinas estimuladoras de la respuesta inmunitaria; o bloqueo de citocinas inmunosupresoras.

Los anticuerpos ILT4 descritos en la presente se pueden usar conjuntamente con uno o más de los agentes agonistas que ligan receptores coestimuladores positivos, agentes de bloqueo que atenúan la señalización a través de receptores inhibidores, antagonistas, y uno o varios agentes que aumentan sistémicamente la frecuencia de células T anti-tumorales, agentes que combaten distintas vías supresoras inmunitarias dentro del microentorno tumoral (por ejemplo, bloquean la unión con el receptor inhibidor (por ejemplo, interacciones PD-L1/PD-1), agotan o inhiben Tregs (por ejemplo, usando un anticuerpo monoclonal anti-CD25 (por ejemplo, daclizumab) o mediante depleción *ex vivo* con perlas anti-CD25), inhiben enzimas metabólicas tales como IDO, o revierten/previenen la anergia o el agotamiento de células T) y agentes que desencadenan la activación inmunitaria innata y/o la inflamación en sitios tumorales.

En ciertas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se administra a un sujeto conjuntamente con un inhibidor de BRAF si el sujeto es positivo a la mutación BRAF V600.

Adecuadamente los antagonistas de PD-1 para usar en la terapia de combinación descrita en la presente, incluyen, entre otros, ligandos, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoclonales y anticuerpos biespecíficos) y agentes multivalentes. En una realización, el antagonista de PD-1 es una proteína de fusión, por ejemplo, una proteína de fusión Fc, tal como AMP-244. En una realización, el antagonista de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1.

Un anticuerpo anti-PD-1 ejemplar es nivolumab (BMS-936558) o un anticuerpo que comprende las CDR o las regiones variables de uno de los anticuerpos 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 y 4A11 descritos en WO 2006/121168. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-1 es MK-3475 (Lambrolizumab) descrito en WO2012/ 145493; AMP-514 descrito en WO 2012/145493; o PDR001. Otros anticuerpos PD-1 conocidos y otros inhibidores de PD-1 incluyen los descritos en WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, las Patentes de los EE.UU. Nros. 7.635.757 y 8.217.149 y la Publicación de Patente de los EE.UU. Nro. 2009/0317368. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-PD-1 divulgados en WO2013/173223. También se puede usar en tratamientos de combinación un anticuerpo anti-

PD-1 que compite por la unión y/o que se une al mismo epítopo en PD-1, como uno de estos anticuerpos.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 útil para la terapia de combinación es BMS-936559 (denominado 12A4 en WO 2007/005874 y en la Patente de los EE.UU. Nro. 7.943.743) o un anticuerpo que comprende las CDR o las regiones variables de 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 y 13G4, que se describe en la Publicación PCT WO 07/005874 y en la Patente de los EE.UU. Nro. 7.943.743. En ciertas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736 (también conocido como durvalumab y Anti-B7-H1), MPDL3280A (también conocido como atezolizumab y RG7446), MSB0010718C (también conocido como avelumab; WO2013/79174) o rHigM12B7. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, las Patentes de los EE.UU. Nro. 7.635.757 y 8.217.149 y la Publicación de los EE.UU. Nro. 2009/145493. También se puede usar en tratamientos de combinación anticuerpos anti-PD-L1 que compiten por la unión y/o que se unen al mismo epítopo como el de cualquiera de estos anticuerpos.

En ciertas realizaciones, el anticuerpo ILT4 de la divulgación se puede usar con un antagonista de CTLA-4, por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4. En una realización, un anticuerpo anti-CTLA-4 es un anticuerpo seleccionado en el grupo de: YERVOY® (ipilimumab o anticuerpo 10D1, descrito en la Publicación PCT WO 01/14424), tremelimumab (anteriormente ticilimumab, CP-675,206), un anticuerpo monoclonal o anti-CTLA-4 descrito en cualquiera de las siguientes publicaciones: WO 98/42752; WO 00/37504; Patente de los EE.UU. Nro. 6.207.156; Hurwitz *et al.* (1998) *Pro. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 95(17): 10067-10071; Camacho *et al.* (2004) *J. Clin. Oncology* 22(145): Resumen Nro. 2505 (anticuerpo CP-675206); y Mokyr *et al.* (1998) *Cancer Res.* 58:5301-5304. También se puede utilizar cualquiera de los anticuerpos anti-CTLA-4 divulgados en WO2013/173223.

En algunas realizaciones, se usa un anticuerpo ILT4 de la divulgación en combinación con un antagonista de LAG3. Los ejemplos de anticuerpos anti-LAG3 incluyen los anticuerpos que comprenden las CDR o las regiones variables de los anticuerpos 25F7, 26H10, 25E3, 8B7, 11F2 o 17E5, que se describen en la Publicación de Patente de los EE.UU. Nro. US2011/0150892, WO10/19570 y WO2014/008218. En una realización, un anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016. Otros anticuerpos anti-LAG-3 reconocidos en la

técnica que se pueden utilizar incluyen IMP731 y IMP-321, descritos en los documentos de los EE.UU. 2011/007023, WO08/132601 y WO09/44273. También se puede usar en tratamientos de combinación anticuerpos anti-LAG-3 que compiten por la unión y/o que se unen al mismo epítipo como el de cualquiera de estos anticuerpos.

En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 de la divulgación se puede administrar en combinación con un agonista CD137 (4-1BB), tal como un anticuerpo agonista CD137. Los anticuerpos CD137 adecuados incluyen, por ejemplo, urelumab o PF-05082566 (WO12/32433).

En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se puede administrar en combinación con un agonista OX40, tal como un anticuerpo agonista OX40. Los anticuerpos OX40 adecuados incluyen, por ejemplo, MEDI-6383, MEDI-6469 o MOXR0916 (RG7888; WO06/029879).

En una realización, un anticuerpo ILT4 se administra en combinación con un agonista de CD40, tal como un anticuerpo agonista de CD40. En ciertas realizaciones, el agente inmuno-oncológico es un antagonista de CD40, tal como un anticuerpo antagonista de CD40. Los anticuerpos CD40 adecuados incluyen, por ejemplo, lucatumumab (HCD122), dacetuzumab (SGN-40), CP-870,893 o Chi Lob 7/4.

En una realización, un anticuerpo ILT4 se administra en combinación con un agonista de CD27, tal como un anticuerpo agonista de CD27. Los anticuerpos CD27 adecuados incluyen, por ejemplo, varlilumab (CDX-1127).

En ciertas realizaciones, el anticuerpo ILT4 se administra junto con un anticuerpo anti-GITR, por ejemplo, un anticuerpo que tiene las secuencias CDR de 6C8, por ejemplo, un anticuerpo humanizado que tiene las CDR de 6C8, según se describe, por ejemplo, en WO2006/105021; un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti-GITR descrito en WO2011/028683; un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti-GITR descrito en JP2008278814, un anticuerpo que comprende las CDR de un anticuerpo anti-GITR descrito en WO2015/031667, WO2015/187835, WO2015/184099, WO2016/054638, WO2016/057841 o WO2016/057846 u otro anticuerpo anti-GITR descrito o mencionado en la presente.

En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se administra en combinación con MGA271 (para B7H3) (WO11/109400).

En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se administra en combinación con un antagonista KIR, tal como lirilumab.

En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se administra en combinación con un antagonista IDO. Los antagonistas IDO adecuados incluyen, por ejemplo, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), indoximod, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) o F001287.

En algunas realizaciones, un anticuerpo ILT4 se administra en combinación con un agonista del receptor tipo Toll, por ejemplo, un agonista TLR2/4 (por ejemplo, Bacillus Calmette-Guerin); un agonista TLR7 (por ejemplo, Hiltonol o Imiquimod); un agonista TLR7/8 (por ejemplo, Resiquimod); o un agonista TLR9 (por ejemplo, CpG7909).

En una realización, un ILT4 se administra en combinación con un inhibidor de TGF- β , por ejemplo, GC1008, LY2157299, TEW7197 o IMC-TR1.

Terapia de combinación adicional

Los Ab en la presente también se pueden proporcionar antes, en forma sustancialmente contemporánea con, o después de otros modos de tratamiento, por ejemplo, cirugía, quimioterapia, terapia de radiación, o la administración de un producto biológico, tal como otro anticuerpo terapéutico. En algunas realizaciones, el cáncer ha recurrido o progresado luego de una terapia seleccionada entre cirugía, quimioterapia y terapia de radiación, o una combinación de estas. Por ejemplo, un anticuerpo ILT4 como se describe en la presente podría administrarse como terapia adyuvante cuando existe el riesgo de la presencia de micrometástasis y/o a fin de reducir el riesgo de una recaída.

Para el tratamiento del cáncer, las combinaciones se pueden administrar conjuntamente con uno o varios agentes anti-cancerosos, tales como un agente quimioterapéutico, un agente inhibidor del crecimiento, una vacuna anti-cancerosa tal como una vacuna de terapia génica, un agente anti-angiogénico y/o una composición anti-neoplásica. Los ejemplos no limitantes de agente quimioterapéutico, agente inhibidor del crecimiento, vacuna anti-cancerosa, agente anti-angiogénico y composición anti-neoplásica que se pueden usar en combinación con los anticuerpos de la presente invención se proporcionan en "Definiciones".

En algunas realizaciones, se puede administrar con la combinación un fármaco anti-

inflamatorio, tal como un esteroide o un fármaco anti-inflamatorio no esteroide (NSAID). En los casos en los que es deseable inactivar las células proliferativas aberrantes en forma conjunta o antes del tratamiento con los anticuerpos ILT4, descritos en la presente, también se pueden administrar al paciente hormonas y esteroides (inclusive análogos sintéticos), tales como 17a-Etinilestradiol, Dietilestilbestrol, Testosterona, Prednisona, Fluoximesterona, Propionato de Dromostanolona, Testolactona, Megestrolacetato, Metilprednisolona, Metil-testosterona, Prednisolona, Triamcinolona, Clorotrianiseno, Hidroxiprogesterona, Aminoglutetimida, Estramustina, Medroxyprogesteronacetato, Leuprolide, Flutamide, Toremifene, ZOLADEX®. Cuando se emplean los métodos y las composiciones descritas en la presente, también se pueden administrar, según se desee, otros agentes usados en la modulación del crecimiento tumoral o la metástasis en la práctica clínica, tales como antimitóticos.

Los anticuerpos descritos en la presente también se pueden combinar con un agente inmunogénico, tal como células cancerosas, antígenos tumorales purificados (inclusive proteínas recombinantes, péptidos y moléculas de carbohidratos), células y células transfectadas con genes que codifican citocinas inmunoestimulantes (He *et al.*, (2004) *J. Immunol.* 173:4919-28). Los ejemplos no limitantes de vacunas anti-tumorales que se pueden usar incluyen péptidos de antígenos de melanoma, tales como péptidos de gp100, antígenos MAGE, Trp-2, MART1 y/o tirosinasa, o células tumorales transfectadas para expresar la citocina GM-CSF (sobre la que se expone a continuación).

Un anticuerpo ILT4 descrito en la presente, también se puede combinar con un protocolo de vacunación. Se han diseñado numerosas estrategias de vacunación contra tumores (ver Rosenberg, S., 2000, Development of Cancer Vaccines, ASCO Educational Book Spring: 60-62; Logothetis, C, 2000, ASCO Educational Book Spring: 300-302; Khayat, D. 2000, ASCO Educational Book Spring: 414-428; Foon, K. 2000, ASCO Educational Book Spring: 730-738; ver también Restifo, N. y Sznol, M., Cancer Vaccines, C. 61, pp. 3023-3043 en DeVita *et al.* (eds.), 1997, Cancer: Principles and Practice of Oncology, quinta edición). En una de estas estrategias, se prepara una vacuna usando células tumorales autólogas o alogénicas. Estas vacunas celulares han demostrado ser las más eficaces cuando las células tumorales se transducen para expresar GM-CSF. GM-CSF ha demostrado ser un potente activador de la presentación de antígenos para la vacunación tumoral (Dranoff *et al.* (1993)

Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU. 90: 3539-43).

El estudio de la expresión génica y los patrones de expresión génica a gran escala en diversos tumores ha llevado a la definición de los así llamados antígenos específicos de tumores (Rosenberg, S A (1999) *Immunity* 10: 281-7). En muchos casos, estos antígenos
 5 específicos de tumores son antígenos de diferenciación expresados en los tumores y en la célula de la cual surgió el tumor, por ejemplo, antígenos de melanocitos gp100, antígenos MAGE y Trp-2. Aún más importante, se puede mostrar que muchos de estos antígenos son los objetivos de células T específicas del tumor halladas en el huésped. La inhibición de ILT4
 10 se puede usar conjuntamente con una colección de proteínas recombinantes y/o péptidos expresados en un tumor a fin de generar una respuesta inmunitaria a estas proteínas. Estas proteínas normalmente son vistas por el sistema inmunitario como auto antígenos y, por lo tanto, es tolerante a ellas. El antígeno tumoral puede incluir la proteína telomerasa, que se requiere para la síntesis de telómeros de cromosomas y que se expresa en más del 85 % de los cánceres humanos y en solo un número limitado de tejidos somáticos (Kim *et al.* (1994) *Science* 266: 2011-2013). El antígeno tumoral también puede ser "neo-antígenos" expresados en células cancerosas debido a mutaciones somáticas que alteran la secuencia proteica o crean proteínas de fusión entre dos secuencias no relacionadas (es decir, bcr-abl en el cromosoma Filadelfia), o idiotipos de tumores de células B.

Otras vacunas tumorales pueden incluir las proteínas de virus implicados en cánceres humanos tales como los virus del papiloma humano (HPV), los virus de la hepatitis (HBV y HCV) y los virus del herpes causado por el sarcoma de Kaposi (KHSV). Otra forma de antígeno tumoral específico que se puede usar conjuntamente con Abs ILT4 son proteínas purificadas con choque térmico (HSP) aisladas del propio tejido tumoral. Estas proteínas de choque térmico contienen fragmentos de proteínas de las células del tumor y estas HSP son altamente eficientes para el suministro de células presentadoras de antígeno para provocar la inmunidad tumoral (Suot & Srivastava (1995) *Science* 269: 1585-1588; Tamura *et al.* (1997) *Science* 278: 117-120).

Las células dendríticas (DC) son células presentadoras de antígenos potentes que se pueden usar para iniciar respuestas antigénicas específicas. Las DC se pueden producir *ex vivo* y cargarse con diversas proteínas y antígenos peptídicos como así también con extractos de células tumorales (Nestle *et al.* (1998) *Nature Medicine* 4: 328-332). Las DC también se

pueden transducir por medios genéticos para expresar también estos antígenos tumorales. Las DC también se han fusionado directamente con células tumorales a los fines de inmunización (Kugler *et al.* (2000) *Nature Medicine* 6:332-336). Como método de vacunación, la inmunización con DC se puede combinar con la inhibición de ILT4 para activar respuestas anti-tumorales más potentes.

Tratamientos para enfermedades infecciosas

Los métodos descriptos en la presente también se pueden usar para tratar pacientes que han estado expuestos a toxinas o patógenos particulares. Por consiguiente, esta divulgación también contempla métodos para tratar una enfermedad infecciosa en un sujeto que comprende administrar al sujeto un anticuerpo según se describió en la presente, por ejemplo, un anticuerpo ILT4, de forma tal que el sujeto recibe tratamiento para la enfermedad infecciosa. De modo similar a su aplicación a tumores como se expuso anteriormente, la inhibición de ILT4 mediada por anticuerpos se puede usar sola, o como un adyuvante, en combinación con vacunas, para estimular la respuesta inmunitaria frente a patógenos, toxinas y auto-antígenos. Los ejemplos de patógenos para los que esta estrategia terapéutica podría ser particularmente útil incluyen patógenos para los que no existe actualmente una vacuna eficaz, o patógenos para los que las vacunas convencionales no llegan a ser completamente eficaces. Estos incluyen, entre otros, VIH, hepatitis (A, B y C), influenza, herpes, giardia, malaria, leishmaniasis, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. La inhibición de ILT4 puede ser útil frente a infecciones establecidas por agentes tales como VIH que presentan antígenos alterados en el curso de las infecciones.

Algunos ejemplos de virus patógenos que provocan infecciones que se pueden tratar con los métodos descriptos en la presente incluyen VIH, hepatitis (A, B o C), el virus del herpes (por ejemplo, los virus VZV, HSV-1, HAV-6, HSV-II y CMV, el virus de Epstein Barr), adenovirus, virus de la influenza, flavivirus, ecovirus, rinovirus, virus coxsackie, coronavirus, virus sincitial respiratorio, virus de la papera, rotavirus, virus del sarampión, virus de la rubeola virus, parvovirus, vaccinia virus, virus HTLV, virus del dengue, papilomavirus, virus del molusco, virus de la poliomiелitis, virus de la rabia, virus JC y virus de la encefalitis arboviral.

Algunos ejemplos de las bacterias que provocan infecciones que se pueden tratar con los métodos descriptos en la presente incluyen clamidia, bacteria de rickettsial,

micobacteria, estafilococo, estreptococo, neumococo, meningococo y gonococo, klebsiella, proteus, serratia, pseudomonas, legionella, difteria, salmonela, bacilos, cólera, tétanos, botulismo, ántrax, peste, leptospirosis y bacteria de la enfermedad de Lyme.

Algunos ejemplos de hongos patogénicos causantes de infecciones que se pueden tratar con los métodos descritos en la presente incluyen *Candida* (*albicans*, *krusei*, *glabrata*, *tropicalis*, etc.), *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus* (*fumigatus*, *niger*, etc.), Genus *Mucorales* (*mucor*, *absidia*, *rhizopus*), *Sporothrix schenckii*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Coccidioides immitis* y *Histoplasma capsulatum*.

Algunos ejemplos de parásitos patógenos que causan infecciones que se pueden tratar con los métodos descritos en la presente incluyen *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* sp., *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* sp., *Pneumocystis carinii*, *Plasmodium vivax*, *Babesia microti*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii* y *Nippostrongylus brasiliensis*.

En todos los métodos mencionados anteriormente, la inhibición de ILT4 se puede combinar con otras formas de inmunoterapia, por ejemplo, aquellas descritas en la presente, tales como tratamiento con citocinas (por ejemplo, interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2), o terapia con anticuerpos biespecíficos, que pueden proporcionar la presentación mejorada de antígenos tumorales (ver, por ejemplo, Holliger (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak (1994) *Structure* 2: 1121-1123).

Rutas de administración y portadores

En diversas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar *in vivo* por diversas rutas, inclusive, entre otras, intravenosa (i.v.), subcutánea, oral, intra-arterial, parenteral, intranasal, intramuscular, intracardíaca, intraventricular, intratraqueal, bucal, rectal, intraperitoneal, intradérmica, tópica, transdérmica e intratecal, o de otra forma mediante implantación o inhalación. Las composiciones objeto de la presente se pueden formular en preparaciones en forma sólida, semi-líquida o gaseosa, inclusive, entre otras, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, ungüentos, soluciones, supositorios, enemas, inyecciones, inhalantes y aerosoles. Una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo se puede recubrir sobre micropartículas y administrarse de forma intradérmica mediante un dispositivo de bombardeo de partículas, o "biolística", según se describe en la bibliografía (ver, por

ejemplo, Tang et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). La formulación y la vía de administración apropiadas se pueden seleccionar de acuerdo con la aplicación pretendida.

En diversas realizaciones, las composiciones que comprenden los anticuerpos se proporcionan en formulaciones con una amplia variedad de portadores farmacéuticamente aceptables (ver, por ejemplo, Gennaro, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20^{ma} ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7^{ma} ed., Lippencott Williams y Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3^{ra} ed., Pharmaceutical Press (2000)). Se encuentran disponibles diversos portadores farmacéuticamente aceptables, que incluyen vehículos, adyuvantes y diluyentes. Asimismo, también se encuentran disponibles diversas sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como ajustadores de pH y agentes de tamponamiento, agentes para ajuste de tonicidad, estabilizantes, agentes humectantes y otros similares. Los ejemplos no limitantes de portadores ejemplares incluyen solución salina, solución tamponada, dextrosa, agua, glicerol, etano y sus combinaciones.

En diversas realizaciones, las composiciones que comprenden anticuerpos se pueden formular para inyección, inclusive administración subcutánea, disolviéndolas, suspendiéndolas o emulsionándolas en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros aceites, glicéridos sintéticos de ácidos alifáticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores, o propilenglicol; y si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizantes, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizantes y conservantes. En diversas realizaciones, las composiciones se pueden formular para inhalación, por ejemplo, usando propelentes presurizados aceptables tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y otros similares. En diversas realizaciones, las composiciones también se pueden formular en microcápsulas de liberación sostenida, tales como polímeros biodegradables o no biodegradables. Un ejemplo no limitante de formulación biodegradable incluye polímero del ácido glicólico del ácido poliláctico. Un ejemplo no limitante de formulación no biodegradable incluye una poliglicerina del éster del ácido graso. Ciertos métodos para elaborar tales formulaciones se describen, por ejemplo, en EP 1 125 584 A1.

También se proporcionan paquetes y kits farmacéuticos que comprenden uno o varios envases, cada uno de ellos conteniendo una o varias dosis de un anticuerpo o combinación de anticuerpos. En algunas realizaciones, se proporciona una dosis unitaria donde la dosis

unitaria contiene una cantidad predeterminada de una composición que comprende un anticuerpo o una combinación de anticuerpos, con o sin uno o varios agentes adicionales. En algunas realizaciones, dicha dosis unitaria se suministra en una jeringa pre-cargada de uso único para inyección. En diversas realizaciones, la composición contenida en la dosis unitaria puede comprender solución salina, sacarosa o similares; un tampón, tal como fosfato, o similares; y/o estar formulada dentro de un rango de pH estable y eficaz. Alternativamente, en algunas realizaciones, la composición se puede proporcionar como un polvo liofilizado que se puede reconstituir luego del agregado de un líquido apropiado, por ejemplo, agua estéril. En algunas realizaciones, la composición comprende una o varias sustancias que inhiben la acumulación de proteínas, inclusive, entre otras, sacarosa y arginina. En algunas realizaciones, una composición de la invención comprende heparina y/o proteoglicano.

Las composiciones farmacéuticas se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento o la profilaxis de la indicación específica. La cantidad terapéuticamente eficaz generalmente depende del peso del sujeto a tratar, su estado físico y de salud, la extensión de la afección a tratar, o la edad del sujeto tratado. En general, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 10 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas realizaciones, los anticuerpos se pueden administrar en una cantidad comprendida dentro del rango de aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por dosis.

Las composiciones de anticuerpos se pueden administrar según las necesidades de los sujetos. La determinación de la frecuencia de administración la pueden realizar los expertos en la técnica, por ejemplo, el médico actuante, sobre la base de las consideraciones de la afección tratada, la edad del sujeto tratado, la gravedad de la afección tratada, el estado

general de salud del sujeto tratado y otras similares. En algunas realizaciones, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo a un sujeto una o más veces. En diversas realizaciones, se administra al sujeto una dosis eficaz de un anticuerpo una vez por mes, menos de una vez por mes, tal como, por ejemplo, cada dos meses o cada tres meses. En otras realizaciones, se administra al sujeto una dosis eficaz de un anticuerpo más de una vez al mes, tal como, por ejemplo, cada tres semanas, cada dos semanas o una vez por semana. En algunas realizaciones, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo una vez cada 1, 2, 3, 4 o 5 semanas. En algunas realizaciones, se administra una dosis eficaz de un anticuerpo dos o tres veces por semana. Se administra una dosis eficaz de un anticuerpo al sujeto al menos una vez. En algunas realizaciones, la dosis eficaz de un anticuerpo se puede administrar múltiples veces, inclusive durante períodos de al menos un mes, al menos seis meses o al menos un año.

En ciertas realizaciones, la combinación del anticuerpo ILT4 y un segundo agente, como se expuso en la presente, se puede administrar de manera concurrente como una sola composición en un portador farmacéuticamente aceptable, o de manera concurrente como composiciones separadas con el anticuerpo ILT4 y el segundo agente en un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, la combinación del anticuerpo ILT4 y el segundo agente se pueden administrar secuencialmente. La administración de los dos agentes se puede iniciar en intervalos de, por ejemplo, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 3 días, 5 días, 7 días, o una o más semanas, o la administración del segundo agente se puede iniciar, por ejemplo, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos, 120 minutos, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 3 días, 5 días, 7 días, o una o más semanas después de haber administrado el primer agente.

EJEMPLOS

Los ejemplos que se exponen a continuación se consideran puramente ejemplares de la invención y no se deberá considerar que limitan la invención en modo alguno. Los ejemplos no están destinados a representar que los experimentos que siguen son la totalidad o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para asegurar la exactitud con respecto a los números utilizados (por ejemplo, cantidades, temperatura, etc.) pero podrían

existir algunos errores experimentales y desviaciones. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es el peso molecular promedio, la temperatura está expresada en grados Centígrados, y la presión es presión atmosférica o cercana a esta.

EJEMPLO 1: Generación de anticuerpos que se unen a ILT4 humano

Se generaron anticuerpos monoclonales ILT4 anti-humanos (anticuerpos ILT4 o anticuerpos hILT4) usando ratones transgénicos que expresan genes de anticuerpos humanos. Los anticuerpos monoclonales completamente humanos para ILT4 humano se generaron inmunizando 2 tipos de animales transgénicos con inmunoglobulina humana. Los ratones KM [M/K] se inmunizaron con proteína recombinante hILT4-mFc, que estuvo compuesta de la porción extracelular de hILT4 con una marca de Fc de ratón de extremo C. El antígeno se mezcló 1:1 con adyuvante Ribi y los ratones se inmunizaron en intervalos semanales por vía intraperitoneal y subcutánea. La cepa HCo42:01 [J/K] se inmunizó con proteína recombinante marcada con hILT4-his, que estuvo compuesta de la porción extracelular de hILT4 con una marca his en el extremo C. El antígeno se mezcló 1:1 con adyuvante Ribi y los ratones se inmunizaron en intervalos semanales en la almohadilla plantar. Los títulos de suero en ambos tipos de ratones se monitorearon después de cuatro y seis inyecciones. Los ratones recibieron refuerzos finales antes de la recolección final. Dependiendo de la ruta de inmunización, los ganglios linfáticos de drenado y el bazo se recolectaron para fusiones subsecuentes.

Los linfocitos de ratón se aislaron de los ratones inmunizados. Los hibridomas se generaron por fusiones con un auxiliar de fusión de mieloma de ratón por electrofusión basada en campo eléctrico usando un electroporador de fusión celular de cámara grande Cyto Pulse Hybrimmune (BTX/Harvard Apparatus). Las suspensiones celulares únicas de linfocitos de ratones inmunizados se fusionaron a un número igual de células de mieloma de ratón no secretoras de P3X63 Ag8.6.53 (ATCC) (números de fusión 4865 y 6951). Las células resultantes se colocaron en placas de microtitulación de fondo plano en Medio E (StemCell Technologies) suplementado con aminopterina para la selección de hibridomas (Sigma).

Se seleccionaron las cavidades individuales para la presencia de anticuerpos de

cadena ligera kappa de IgG humana/humanos (hlgG/hK) usando un ensayo de HTRF homogéneo después de 10-12 días de cultivo. Los sobrenadantes de hibridoma de las cavidades positivas para hlgG/hK se analizaron por FACS o por FMAT para la unión a las células transfectadas con hILT4 o células CHO de control. Los siguientes anticuerpos que interactuaron específicamente con hILT4 se caracterizaron adicionalmente: 9C8.A6, 24E5.A7, 2H2.H3, 21D9.H11, 2E5.A11 y 9G4. Los anticuerpos 21A5 y 10F10 se aislaron de una inmunización más tarde.

Los anticuerpos de los hibridomas se secuenciaron usando un método de secuenciación de alto rendimiento NGS. De manera breve, para cada clon de hibridoma en una cavidad de una placa de 96 cavidades, la amplificación por PCR de las regiones de VH y VL se realizó usando códigos de barra de ADN únicos para identificar cada cavidad. El cebador de PCR en 5' hibrida a la región líder de modo que se obtiene la secuencia de región variable completa. Una secuencia de anticuerpo de hibridoma particula se identificó por coincidencia del código de barras y la ubicación del clon en la placa.

Los anticuerpos anti-ILT4: 9G4, 9C8, 2H2, 2E5, 24E5, 21D9, 21A5 y 10F10 se expresaron recombinantemente en el contexto de una región constante de cadena pesada IgG1, IgG1.1 o IgG1.3, y también se denominan como se proporciona en la Tabla 1. La secuencia de aminoácidos de, y las secuencias de nucleótidos que codifican, los HC, LC, VH y VL se proporcionan en las Figuras 1-12 y en la Tabla de secuencias a continuación. La ubicación de cada una de las CDR se proporciona en las Figuras, así como se indica por el subrayado en las secuencias de región variable de la Tabla de Secuencias, y las CDR se incluyen también como SEQ ID Nos separadas hacia el final de la Tabla de Secuencias.

Un análisis de las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de anticuerpos 21D9, 21A5, 2H2 y 10F10 indicó que determinados residuos de aminoácidos marco no estaban presentes en ninguna línea germinal humana. Para reducir los posibles problemas de inmunogenicidad cuando se administran estos anticuerpos a humanos, se generaron mutantes de reversión de línea germinal de estos anticuerpos ILT4.

Para el anticuerpo 21D9, se identificaron cuatro mutaciones marco en la región variable de cadena pesada con respecto a las secuencias de línea germinal (V2G, G10D, A24T y V48I), y se muestran en la Figura 13. Entre las diversas combinaciones de estas 4 mutaciones inversas, se generaron cuatro mutantes de reversión (21D9.b, 21D9.c, 21D9.d y

21D9.e) (ver la Figura 13) y se analizó su unión a hILT4. Los 4 mutantes de reversión comprenden la mutación EGQ a EVQ (o G2V) de extremo N, que probablemente no afecte la unión a ILT4. Además de esta sustitución, cada uno de los mutantes 21D9.b, 21D9.c, y 21D9.d comprende una de las sustituciones adicionales que se muestran en la Figura 13 (D10G; I24A; y/o I48V), y 21D9.e comprende sustituciones de las tres (ver la Figura 13). Se generaron los cuatro mutantes en el contexto de una región constante de cadena pesada IgG1.3, que es una región constante de IgG1 que comprende las sustituciones de aminoácidos L234A, L235E y G237A, para reducir la función efectora. Los mutantes se denominan 21D9.b.hIgG1.3 (“21D9.VH-G2V/D10G8V.IgG1.3”), 21D9.c.hIgG1.3 (“21D9.VH-G2V/ T24A.IgG1.3”), 21D9.d.hIgG1.3 (“21D9.VH-G2V/I48V”) y 21D9.e.hIgG1.3 (“21D9.VH-G2V/D10G/T24A/I48V.IgG1.3”), y comprenden la cadena ligera de 21D9. No se realizaron reversiones de línea germinal a la cadena ligera.

Para el anticuerpo 21A5, se identificó una mutación marco en cada una de las regiones variables de cadena pesada (T70I) y cadena ligera (V3A), como se muestra en la Figura 14. Dado que la reversión de extremo N en la cadena ligera kappa, que se muestra en A3V, probablemente no afecte la unión, se generó un mutante que comprende las mutaciones de reversión de cadena pesada (I70T) y ligera (A3V) (21A5.a con una cadena ligera 21A5.1) y se analizó en el contexto de IgG1.3 (21A5.a.IgG1.3, que también se denomina “21A5.VH-I70T.VK-A3V.IgG1.3”).

Para el anticuerpo 10F10, se identificaron dos mutaciones marco en la región variable de cadena ligera (Y36F y S63T), y se muestran en la Figura 15. No se encontró una mutación marco en la región variable de cadena pesada. Dado que la reversión F a Y en la posición 36 es una diferencia menor, se generó un dobole mutante (10F10.3) que comprende ambas mutaciones de reversión de cadena ligera F36Y y T63S y se analizó en el contexto de IgG1.3 (10F10.3.IgG1.3, también denominado “10F10.VK-F36Y/T63S.IgG1.3”). También se generó un mutante solamente con la mutación de reversión F36Y y se analizó en el contexto de IgG1.3 (10F10.1.IgG1.3, también denominado “10F10.VK-F36Y.IgG1.3”). Ambos Abs mutantes de reversión comprenden la cadena pesada de 10F10. La Tabla 1 establece los nombres alternativos de anticuerpos recombinantes descritos en la presente.

Tabla 1: Nombres alternativos de anticuerpos anti-hILT4 recombinantes

9G4.IgG1.1	ILT4.1.IgG1.1
9C8.IgG1.1	ILT4.2.IgG1.1
2H2.IgG1.1	ILT4.3.IgG1.1
2E5.IgG1.1	ILT4.4.IgG1.1
24E5.IgG1.1	ILT4.5.IgG1.1
21D9.IgG1.1	ILT4.6.IgG1.1
21D9.IgG1.3	ILT4.6.IgG1.3
21D9.e.IgG1.3	ILT4.8.IgG1.3
21A5.a.IgG1.3	ILT4.9.IgG1.3
10F10.IgG1.3	ILT4.10.IgG1.3
10F10.3.IgG1.3	ILT4.11.IgG1.3

EJEMPLO 2: Unión de anticuerpos anti-hILT4 a hILT4 soluble

La cinética de unión de los anticuerpos anti-hILT4 mutantes de reversión originales y de línea germinal (en el contexto de IgG1.3) se midió mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR) usando un instrumento Biacore® T200. La temperatura del ensayo fue 37 °C y el amortiguador de ejecución fue PBS pH 7.4 suplementado con 0.05% Tween-20. Todos los anticuerpos anti-hILT4 se captaron en un chip CM4 con proteína pre-inmovilizada A/G (Pierce Thermo Scientific número de catálogo 21186). Tres diferentes lotes de 21D9 se usaron como control. El ILT4 humano monomérico se inyectó como analito. Se usaron concentraciones adecuadas para el análisis: Para 10F10.1 y 10F10.3: se analizó una dilución en serie de 3 veces con una concentración superior de hILT4 de 1.4 µM. Para 10F10, se analizaron dos diluciones en serie de hILT4 independientes: concentración superior de 1.4 µM, diluciones 5 veces y 470 nM, diluciones de 3 veces). Para todos los otros anticuerpos se usaron una concentración superior de hILT4 de 94 nM y una dilución en serie de 5 veces. El hILT4 usado en este experimento, que comprende la región extracelular de hILT4 enlazada a una marca His-Avi, consiste en la siguiente secuencia de aminoácidos:

QTGTIPKPTLWAEPSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKKSASWITRIRPELVKNGQFHI
 PSITWEHTGRYGCQYYSRARWSELSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQPSVVTSGGRVTLQCES
 QVAFGGFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVW

SSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAPGESLTLCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPG
 RQPQAGLSQANFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSSESSAPSDPLDILITGQIRGTPFISVQPG
 PTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPLRLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTY
 RCYGSLNSDPYLLSHPSEPLELVVSGPSMGSSPPPTGPISTPAGPEDQPLTPTGSDPQSGLG
 RHLGSPGGGSGGGSEQKLISEEDLGHHHHHHGLNDIFEAQKIEWHE (marca hILT4-His-Avi;
 SEQ ID NO: 119).

Se muestran los resultados en la Tabla 2 y en la Figura 16.

Tabla 2: Cinética de unión de anticuerpos anti-hILT4 a hILT4

Ligando	Muestra	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmáx (RU)	Nivel de ligando (RU)	app. act.
10F10	hILT4	estado estacionario		1.8E-08	31.2	39.4	114%
10F10	hILT4	1.6E+06	2.3E-02	1.4E-08	22.3	24.7	130%
10F10	hILT4	estado estacionario		1.9E-08	20.5	24.7	120%
10F10	hILT4	1.3E+06	2.0E-02	1.5E-08	30.7	39.4	112%
10F10.1	hILT4	1.5E+06	~7E-02	4.6E-08	21.3	32.8	94%
10F10.1	hILT4	estado estacionario		5.6E-08	20	32.8	88%
10F10.3	hILT4	estado estacionario		5.2E-08	18.8	23.5	115%
10F10.3	hILT4	1.7E+06	~8E-02	4.7E-08	20.1	23.5	123%
21A5	hILT4	1.2E+06	1.7E-04	1.4E-10	27.1	31	126%
21A5.a	hILT4	1.1E+06	1.9E-04	1.7E-10	27.9	41	98%
21D9.b	hILT4	3.1E+06	1.1E-03	3.4E-10	24.9	39.8	90%

Ligando	Muestra	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD (M)	R _{máx} (RU)	Nivel de ligando (RU)	app. act.
21D9.c	hILT4	3.0E+06	1.2E-03	4.2E-10	27.4	40.7	97%
21D9.d	hILT4	3.1E+06	1.1E-03	3.5E-10	26.3	45.3	84%
21D9.e	hILT4	3.1E+06	1.2E-03	3.9E-10	25.4	39.3	93%
21D9_3610	hILT4	3.3E+06	1.0E-03	3.1E-10	14.3	27.5	75%
21D9_3848	hILT4	3.2E+06	1.0E-03	3.2E-10	15.8	44.1	52%
21D9_LC2_4313	hILT4	3.0E+06	1.1E-03	3.7E-10	27.8	40.8	98%

Los resultados muestran que los 4 mutantes de reversión de 21D9 presentan cinética y afinidad similares. 21A5 y su mutante de reversión 21A5.a también presentan cinética y afinidad similares. Sin embargo, los dos mutantes de reversión 10F10, 10F10.1 y 10F10.3, presentan velocidades de disociación levemente mayores que su 10F10 original, lo que conlleva una pérdida de alrededor de 3 veces en la afinidad total. Las velocidades de disociación de 10F10.1 y 10F10.3 son demasiado rápidas para determinarse con confianza elevada.

EJEMPLO 3: Unión de anticuerpos anti-hILT4 a células que expresan hILT4

Este ejemplo describe las características de unión de anticuerpos anti-hILT4 a células CHO transfectadas con hILT4 y a monocitos humanos que expresan hILT4.

Las células CHO se transfectaron con hILT4 y se tiñeron con anticuerpos anti-hILT4 individuales 2H2, 10F10 ("10F10 WT"), 21A5 ("21A5 WT"), 21A5.a, 21D9 ("21D9 WT") y 21D9e (todos en el contexto de IgG1.3) que se titularon a partir de 20 µg/ml mediante dilución en serie de 3 veces y luego se sometieron a IgG anti-humano secundario conjugado con PE. Se usó análisis FACS para intensidad media de fluorescencia geométrica (GMFI, por sus siglas en inglés) para determinar la EC₅₀.

Las curvas de unión y los valores EC se muestran en las Figuras 17 y 18A.

En la Figura 18B, los monocitos seleccionados de sangre periférica de un donante sano normal se tiñeron con anticuerpos anti-ILT4 individuales conjugados con Alexa67. Los

anticuerpos se titularon a partir de 20 ug/mL mediante dilución en serie de 3 veces, y se determinó GMFI mediante análisis FACS para calcular la EC50 (que se muestra en la tabla debajo de la gráfica).

EJEMPLO 4: Selectividad de anticuerpos anti-ILT4 contra miembros de la familia LILRA/B

ILT4 es un miembro de una familia de receptores relacionados, que también se denomina como la familia LILRA y LILRB. En este ejemplo, se midió la unión de anticuerpos hILT4 a varios miembros de la familia LILRA/LILRB.

Se sobreexpresaron miembros de la familia ILT individuales en células 293T. Cada transfectante se tiñó con 20 µg/ml de anticuerpos anti-ILT4 seguido de 1 µg/ml de mAb secundario de IgG anti-humana. La unión de los anticuerpos a cada transfectante se midió mediante citometría de flujo. En un segundo experimento, se incubaron los transfectantes LILRA1, LILRA3 e ILT4 con varias concentraciones de 21A5 y 21A5.a.

Los resultados, que se muestran en las Figuras 19A y B y en la Tabla 3, indican que los anticuerpos anti-hILT4 se unen mayormente de manera selectiva a hILT4, con respecto a otros miembros de la familia LILRA y LILRB. LILRA3 es la única proteína secretada en la familia LILRA/B. Más específicamente, 21D9 y 21D9.e no se unen significativamente a LILRA1, LILRA2, LILRA3, LILRA4, LILRA6, ILT2, ILT3, ILT5 y LIR8, y solo unión débil a LILRA5.

Tabla 3: Perfil de selectividad de anticuerpos anti-ILT4 a 20 µg/ml

	LILRA1	LILRA2	LILRA3	LILRA4	LILRA5	LILRA6	ILT2	ILT3	ILT4	ILT5	LIR8	Original
21D9					+				+++			
21D9.e					+				+++			
21A5			+++						+++			
21A5.a			++						+++			
2H2									+++			
10F10									+++			

“Parenteral” en la Tabla 3 se refiere a la línea celular parental en la que se expresan las

moléculas de LILRA o LILRB.

La reactividad cruzada hacia otros miembros de la familia de LILRA se analizó además de la siguiente manera. Se realizó un ensayo de unión de citometría de flujo de titulación de anticuerpo para determinar la potencia de unión de 21D9, 21D9.e, 21A5 y 21A5.a a hILT4 y sus moléculas de ILT de reactividad cruzada respectivas. Se determinó la EC₅₀ usando la fórmula de regresión no lineal del software GraphPad Prism®.

Los resultados, que se muestran en la Tabla 4 y en la Figura 20, muestran que los anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5 y 21A5.a muestran reactividad cruzada débil a otros miembros de la familia LILRA: 21D9 y 21D9.e a LILRA5 y 21A5 y 21A5.a a LILRA1 y LILRA3.

Tabla 4 - Resumen de potencia de unión de EC₅₀ de anticuerpos anti-ILT4 a ILT de reactividad cruzada (µg/ml)

	21D9	21D9.e	21A5	21A5.a
ILT4	0.0460	0.039	0.091	0.085
LILRA5	~29964	~312.6	Sin unión	Sin unión
LILRA1	Sin unión	Sin unión	12.53	49.82
LILRA3	Sin unión	Sin unión	9.18	52.94

21D9 y 21D9.e se unen a hILT4 con alta afinidad, pero no se unen significativamente a hLILRA1, hLILRA2, hLILRA3, hLILRA4, hLILRA6, hILT2, hILT3, hILT5 y hLIR8, y solo débilmente a hLILRA5. Por lo tanto, 21D9 y 21D9.e son mucho más específicos en la unión a hILT4 en relación con otros miembros de la familia hLILRA y hLIRB que otros anticuerpos anti-ILT4, tal como el clon 287219 de R&D Systems, que reacciona cruzado con ILT5 (LILRB3) y LILRA6.

EJEMPLO 5: Los anticuerpos anti-hILT4 potencian las respuestas de linfocitos T

Se determinó el efecto de los anticuerpos anti-hILT4 en las respuestas de linfocitos T,

particularmente la proliferación de linfocitos T y la secreción de linfocitos T interferón-gamma (IFN γ) de la siguiente manera. Se transfectó el hILT4 truncado citoplásmico en células CHO que expresan un nivel bajo de fragmento variable de cadena simple de anticuerpo anti-CD3 (células CHO-OKT3). La línea celular transfectada se denominó CHO-OKT3-ILT4. Los linfocitos T totales de PBMC humanos se cultivaron conjuntamente con células CHO-OKT3-ILT4 irradiadas (con detenimiento del crecimiento) en una relación 4:1. Los anticuerpos anti-ILT4 21D9 (“21D9 WT”), 21D9.e, 21A5 (“21A5 WT”), 21A5.a y 10F10 (“10F10 WT”) se titularon a partir de 20 μ g/mL mediante dilución en serie de 5 veces, y se incubaron durante 3 días a 37C. Se cosechó sobrenadante para evaluar los niveles de IFN γ mediante ELISA, y se pulsaron las placas durante la noche con 3 H timidina para evaluar la proliferación mediante la incorporación de timidina.

Los resultados, que se muestran en las Figuras 21A-D, indican que los anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5, 21A5.a y 10F10 estimulan la proliferación de linfocitos T y la secreción de IFN γ de manera dependiente de la dosis. No se encontraron diferencias significativas en la actividad entre estos anticuerpos en este ensayo.

EJEMPLO 6: Pretratamiento de monocitos con anticuerpos anti-ILT4 durante los resultados de diferenciación en células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC) que son estimuladores a linfocitos T alogénicos

Se aislaron monocitos CD14+ de PBMC humanas usando el kit de aislamiento de monocitos humanos StemCell EasySep®, que se colocaron en placas a 1 millón de células por mL, y se diferenciaron en DC inmaduros derivados de monocitos (Mo-iDC) en medio de cultivo RPMI complementado con 50 ng/mL de GM-CSF y 100 ng/mL de IL-4 durante seis o siete días. Durante la diferenciación, se incubaron las células con anti-ILT4 o anticuerpo de isotipo o se dejaron sin tratar. Después de diferenciar las células en Mo-iDC, se lavaron para retirar los anticuerpos anti-ILT4, GM-CSF e IL-4, y se activaron adicionalmente a células dendríticas maduras (DC (Mo-mDC) en presencia de 50 ng/mL de anticuerpo agonista CD40. Las DC maduras (Mo-mDC) se establecieron para un ensayo de reacción de leucocitos mixta alogénica (allo-MLR) mediante cultivo conjunto de estos con linfocitos T en una relación de 1 : 10 (Mo-mDC : T) durante 5 días. Se cosechó el sobrenadante celular al final del allo-MLR para medir IFN γ mediante ELISA, y se evaluó la proliferación de linfocitos T mediante la

incorporación de ^3H -timidina de las últimas 16 horas.

Los resultados de ensayos separados, que se muestran en la Figura 22, indican que la proliferación de linfocitos T CD4⁺ (Fig. 22A y C) y la secreción de IFN γ (Fig. 22B y D) en un allo-MLR con ensayo de MoDC se potencian cuando las MoDC se diferencian de los monocitos en presencia de anticuerpos anti-ILT4 21A5.a o 21D9.e. Se usaron monocitos de dos donantes distintos en los ensayos separados.

EJEMPLO 7: Las células dendríticas derivadas de monocitos (MoDC) diferenciadas de monocitos sensibilizados con anticuerpo anti-ILT4 tienen expresión aumentada de moléculas coestimuladoras o de maduración

Se aislaron monocitos CD14⁺ de PBMC humanas usando el kit de aislamiento de monocitos humanos StemCell EasySep, que se colocaron en placas a 1 millón de células por mL, y se diferenciaron en células dendríticas inmaduras derivadas de monocitos (Mo-iDC) en medio de cultivo RPMI complementado con 50 ng/mL de GM-CSF y 100 ng/mL de IL-4 durante seis o siete días en presencia de anticuerpos anti-ILT4 21D9.e, 21A5.a, 21A5, 10F10, 21D9, 2H2 o anticuerpo de isotipo o se dejaron sin tratamiento. Las Mo-iDC luego se cosecharon para tinción de marcadores en la superficie celular CD86 y CD83.

Los resultados, que se muestran en la Figura 23, indican el aumento de la expresión de CD86 y CD83, una molécula coestimuladora y una molécula de maduración, respectivamente, en Mo-iDC cuando los anticuerpos anti-ILT4 estaban presentes durante la diferenciación de monocitos de Mo-iDC. Tomados junto con los resultados del Ejemplo 6, estos resultados muestran que el tratamiento de monocitos con anticuerpo anti-hILT4 durante la diferenciación de monocitos a MoDC promueve la proinflamación de MoDc como se muestra por la sobreexpresión de CD83 y CD86 (Figuras 23A-D), que en consecuencia desencadena la proliferación de linfocitos T mejorada y la producción de IFN γ de linfocitos alogénicos en el ensayo alo-MLR (Figura 22). La mejora del tratamiento de funciones de linfocitos con anticuerpos anti-hILT4 puede proporcionar una mejora de la respuesta inmunitaria anticancerosa.

EJEMPLO 8: Los anticuerpos anti-ILT4 potencian la secreción de TNF α de macrófagos diferenciados in vitro

Los monocitos aislados de PBMC humanas se diferenciaron de los macrófagos en presencia de M-CSF durante 5 días. Los macrófagos se trataron con las concentraciones indicadas (junto a su nombre y como ng/ml) de anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 2H2 y 10F10 o control de isotipo en presencia de 10ng/ml de LPS (Fig. 24A) o 5 µg/ml de agonista 2', 3'-cGAMP STING (Fig. 24B). Se midió la producción de TNFα mediante ELISA 24 horas después del tratamiento y los valores de EC50 en la presencia de cada anticuerpo se anotaron próximos a las curvas.

Los resultados, que se muestran en la Figura 24, indican que la presencia de anticuerpos ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5, 21A5.a, 2H2 y 10F10 potenció la secreción de TNFα de los macrófagos diferenciados in vitro mediante LPS o un agonista STING. Por lo tanto, los macrófagos inmunosupresores muestran un cambio a un fenotipo más proinflamatorio cuando se bloquea ILT4, que puede proporcionar potencialmente una mejora de la respuesta inmunitaria anticancerosa. Estos resultados sugieren que los anticuerpos anti-ILT4 promueven la polarización proinflamatoria hacia macrófagos M1.

EJEMPLO 9: Los anticuerpos anti-ILT4 fomentan las respuestas de linfocitos T CD4 en allo-MLR de macrófagos: linfocitos T CD4+

Los monocitos aislados de PBMC periféricas se trataron con M-CSF durante 5 días para diferenciarlos de macrófagos. Luego, los macrófagos se cultivaron conjuntamente con linfocitos T CD4 + alogénicos que se aislaron de PBMC de un donante distinto, y se etiquetaron con tinte CFSE. Los anticuerpos indicados a 1 µg/ml (control de isotipo, o anti-ILT4, o anti-PDL1) se incluyeron en el cocultivo de allo-MLR. El día 6, se recogió el sobrenadante para analizar IFNγ, y se evaluó la proliferación de linfocitos T CD4+ mediante FACS en función de la dilución de CFSE.

Los resultados, que se muestran en la Figura 25A-B, indican que la presencia de los anticuerpos anti-ILT4 21D9, 21D9.e, 21A5 o 21A5.a en allo-MLR de macrófagos diferenciados in vitro y linfocitos T CD4+ fomenta la proliferación de linfocitos T CD4+ (Fig. 25A) y la producción de IFNγ (Fig. 25B). Estos resultados sugieren que los anticuerpos anti-ILT4 promueven la activación de linfocitos T ya sea mediante la modulación de la señalización supresiva de ILT4 en macrófagos o el bloqueo de su actividad supresora directa en linfocitos T.

EJEMPLO 10: Efecto combinado de anti-ILT4 y anti-PD-L1 en allo-MLR de macrófagos: linfocitos T CD4

Los monocitos aislados de PBMC periféricas se trataron con M-CSF durante 5 días para diferenciarlos de macrófagos, que luego se cultivaron conjuntamente con linfocitos T CD4 + alogénicos que se aislaron de PBMC de un donante alogénico. El anticuerpo anti-ILT4 21D9 y el anticuerpo anti-PD-L1 añadidos solos o juntos a 10 µg/ml (control de isotipo, anti-ILT4, anti-PD-L1 o anti-ILT4 y anti-PD-L1 combinados) se incluyeron en el cocultivo de allo-MLR. El día 6, se recogió el sobrenadante para analizar IFN γ .

Los resultados, que se muestran en la Figura 26, indican que la combinación del anticuerpo anti-ILT4 21D9 con el anticuerpo anti-PD-L1 estimuló la mejora de la producción de IFN γ de allo-MLR de macrófagos: linfocitos T CD4+ con respecto a cada anticuerpo solo.

EJEMPLO 11: Mapeo de epítomos HDX de Abs anti-hILT4 21D9 y 2H2 Fabs

Se usó HDX-MS para identificar las áreas de hILT4 a las cuales se unen los anticuerpos anti-hILT4 21D9 y 2H2.

HDX-MS analiza la conformación proteica y la dinámica conformacional en solución al controlar la velocidad y el alcance del intercambio de deuterio de los átomos de hidrógeno y amida de la estructura principal (Huang and Chen (2014) Analytical and Bioanalytical Chem. 406:6541 y Wei et al. (2014) Drug Discovery Today 19:95). El nivel de HDX depende de la accesibilidad del solvente de los átomos de hidrógeno y amida de la estructura principal y los enlaces de hidrógeno de la proteína. El aumento de masa de la proteína luego de HDX se puede medir de manera precisa mediante MS. Cuando esta técnica se empareja con digestión enzimática, se pueden resolver las características estructurales a nivel peptídico, lo que permite la diferenciación de los péptidos expuestos en la superficie de aquellos plegados en el interior, o de aquellos captados en la interfaz de un complejo entre proteínas. Comúnmente, se realizan experimentos posteriores de templado y etiquetado con deuterio, seguidos de digestión enzimática, separación de péptidos y análisis MS.

Antes de los experimentos de mapeo de epítomos, se llevaron a cabo experimentos no deuterados para generar una lista de péptidos comunes para ILT4 humano recombinante (15 µM) y complejos proteicos de ILT4 con Fabs 21D9 y 2H2 (relación molar 1:1). En el

experimento HDX-MS, se diluyeron 5 μ L de cada muestra (ILT4 o ILT4 con Fabs) en 55 μ L de amortiguador D₂O (10 mM de amortiguador de fosfato, D₂O, pH7,0) para comenzar las reacciones de etiquetado. Las reacciones se llevaron a cabo durante distintos períodos de tiempo: 1 min, 10 min y 240 min. Al final de cada período de reacción de etiquetado, se inactivó la reacción mediante la adición del amortiguador de inactivación (6M urea, 1M TCEP, pH 2,5, 1:1, v/v) y se inyectaron 50 μ L de muestra inactivada en el sistema Waters HDX-MS para el análisis. Se controlaron los niveles de absorción de deuterio de péptidos pépticos comunes en ausencia/presencia de Fabs 21D9 y 2H2.

El ILT4 humano (hILT4) se etiquetó con histidina y se mezcló con Fabs 21D9 o 2H2 en una relación 1:1 y se sometió a HDX durante 1 minuto, 10 minutos o 4 horas. Se muestra la cobertura de secuencia de hILT4 mediante pepsina en la Figura 27A. Las áreas de hILT4 (o péptidos de hILT4) unidas a cada uno de los Fabs se muestran en las Figuras 27B y C. Específicamente, los experimentos de HDX-MS proporcionaron 85 % de cobertura de secuencia para ILT4 humano. Los datos del análisis HDX-MS sobre 21D9 y 2H2 en ILT4 humano indican que el epítipo de 21D9 está compuesto por una región de ILT4 humano (los números de residuo corresponden a la secuencia de ILT4 humano natural):

Región: ⁷⁰ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY¹⁰⁰ (SEQ ID NO: 122) en el dominio de Ig 2. (Ver Fig. 27B, panel superior)

Los datos del análisis HDX-MS indicaron que el epítipo de 2H2 está compuesto por cinco regiones de ILT4 humano, donde las regiones 2 y 5 son el epítipo principal:

Región 1: ¹²⁷SAQPSPVVTSGGRVTL¹⁴² (SEQ ID NO: 175)

Región 2: ¹⁵⁴ILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (SEQ ID NO: 123)

Región 3: ¹⁸²SVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYWSSPSDL²¹³ (SEQ ID NO: 176)

Región 4: ³⁷⁸QAEFPMSPVTSAG³⁹² (SEQ ID NO: 177)

Región 5: ⁴²⁵SSPPPTGPIS⁴³⁴ (SEQ ID NO: 124) (Ver Fig. 27B, panel inferior)

EJEMPLO 12: Los anticuerpos anti-ILT4 bloquean la unión de ILT4 a moléculas MHC de clase I

Se realizó un ensayo de bloqueo de anticuerpo basado en citometría de flujo para determinar la capacidad de los anticuerpos anti-ILT4 de bloquear la unión de rhILT4-Fc a células CHO que sobreexpresan HLA-A o HLA-B. Se produjo la proteína de fusión rhILT4-Fc

que contenía una cola Fc murina. Los anticuerpos anti-hILT4 21D9, 2H2, 10F10 y 21A5 se titularon en presencia de una concentración fija de 30 µg/ml de rhILT4-Fc. El anticuerpo y la mezcla de rhILT4-Fc se incubaron en hielo durante 30 minutos y luego se añadieron a células CHO diseñadas para sobreexpresar HLA-A o HLA-B. Las células CHO se tiñeron durante 30 minutos en hielo, se lavaron y luego se tiñeron con un anticuerpo secundario de Ig anti-ratón para detectar rhILT4-Fc unido.

Los resultados, que se muestran en las Figs. 28A-D, indican que los anticuerpos 21D9, 2H2, 10F10 y 21A5, respectivamente, inhiben la unión de hILT4 a HLA-A y HLA-B.

EJEMPLO 13: 21D9e.IgG1.3 mejora la secreción tanto de IFN-γ como TNF-α por linfocitos T

Este ejemplo muestra que 21D9e.IgG1.3 mejora la secreción de IFN-gamma y TNF-alfa de los linfocitos T en una reacción de linfocitos mixta autóloga (MLR) de monocitos y células T.

Se aislaron linfocitos T y monocitos de células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y se cocultivaron a una relación de 1:1 en presencia de 20 ng/ml de anticuerpo anti-CD3 (Clon: OKT3, BioLegend). Se añadió 21D9e.IgG1.3 y control de isotipo (DT-1D12-g1.3f) a 10 ug/ml. Se realizó tinción intracelular para determinar las frecuencias de linfocitos T que expresan IFN-γ y TNF-α en cada muestra después de un periodo de incubación de 88 horas utilizando anticuerpo IFN-γ conjugado con fluorocromo (Clon # B27, BioLegend) y anticuerpo TNF-α (Clon # MAb11, BioLegend). Las muestras se adquirieron en un citómetro Cytoflex® (Beckmen Coulter) y se analizaron con el software FlowJo™ (Tree Star, Inc, Ashland, OR).

Los resultados, que se muestran en las Figs. 29A-D, indican que 21D9e.IgG1.3 mejora la secreción tanto de IFN-γ como TNF-α por linfocitos T CD4+ y CD8+ en la MLR alo autóloga tras la estimulación de anti-CD3.

EJEMPLO 14: Los anticuerpos anti-ILT4 mejoran la secreción de IFN-γ tras la estimulación de antígenos en un ensayo de lisado de CMV

Se sembraron en placa células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de un donante reactivo con citomegalovirus (CMV) a 200,000 células por cavidad en presencia de

0.3 µg/ml de lisado de CMV (antígeno 2 de CMV, Microbix Cat # EL-02-01-001). Las células se trataron con titulación de 8 puntos, 5 veces de anticuerpos anti-ILT4 21D9.IgG1.3 y 21A5.IgG1.3 comenzando con 20 µg/ml. Se añadió nivolumab a 1 µg/ml como control positivo. Se añadieron 21D9-Fab y DT-1D12-g1.3 a 20 µg/ml. Se recolectó el sobrenadante de cada muestra y se midió el nivel de IFN-γ mediante ELISA (kit ELISA de IFN-γ humano, BD OptEIA Cat. 555142) después de una incubación de 6 días.

Los resultados, que se muestran en la Fig. 30, indican que los anticuerpos anti-ILT4 21D9.IgG1.3, 21D9-Fab y 21A5.IgG1.3 mejoran la secreción de IFN-γ tras la estimulación antigénica en el ensayo de lisado de CMV.

EJEMPLO 15: El antagonismo de ILT4 mejora la activación de linfocitos T en monocitos: MLR alo T

Se cocultivaron linfocitos T (100,000) de un donante y monocitos alogénicos en una relación de 2:1 por cavidad en una placa de fondo en U de 96 cavidades. Se añadieron anticuerpos anti-ILT4 2H2.IgG1.1f, Fab 2H2, 21D9.IgG1.1f y Fab 21D9 en una titulación de 4 veces y 7 puntos, comenzando con una concentración de 30 µg/ml para el anticuerpo de longitud completa u 80 µg/mL para el anticuerpo Fab. Se añadió anti-KLH-g1.1f (anticuerpo anti-hemocianina) a 30 µg/ml como un control de isotipo. El cultivo celular se incubó durante 6 días. La proliferación celular se evaluó mediante la incorporación de ³H-timidina durante las últimas 16 horas de cultivo.

Los resultados, que se muestran en la Fig. 31, indican que tanto los anticuerpos anti-ILT4 de longitud completa 21D9.IgG1.1f como 2H2.IgG1.1f, y sus respectivos fragmentos Fab inducen la proliferación de células T.

EJEMPLO 16: Unión de anticuerpos anti-hILT4 a ILT4 cyno

Se obtuvieron varios miembros de la familia ILT mediante PCR de monos cynomolgus. Dado que el análisis de la secuencia de estas proteínas no indicó claramente cuál era la coincidencia más cercana con hILT4, se realizaron ensayos funcionales y de perfilado de expresión. Estos ensayos identificaron un clon llamado "9152" como la mejor coincidencia con hILT4 en lo que respecta al perfilado de expresión y las características funcionales. La secuencia de aminoácidos de la región extracelular de 9152, incluyendo una

marca His-Avi, es la siguiente:

QAGILPKPMLWAEPDRVITQGSPVTLRCQGNLEARGYHLYRERKSASWITLIRPELVKKGQFP
 IPSITWEDAGRYRCQYYSHSWWSEHSDPLELVVTGAYRKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDS
 RVALDGFILCKEGEDEHSQRLNSQPRTRGSSRAVFSVGPVSPSRRWSYRCYGYELHSRYVW
 SLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAGGDKLTLQCGSDAGYDRFALYKEGERDFLQRP
 QQLQAGLAQANFTLDPVRGSHGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILISAGPHSGLRRECD
 PAVSVTGMDGHFLSDQGGSSSPGGGSGGGSEQKLISEEDLGHHHHHHHGLNDIFEAQKIEWH
 E (SEQ ID NO: 118). Para unirse a hILT4, la región extracelular (ECD) de la marca hILT4-His-Avi; se utilizó la SEQ ID NO: 119, descrita en el Ejemplo 2.

La cinética de la unión del anticuerpo 21D9.e a ILT4 cyno y humano, usando los constructos de ILT4 anteriores, se analizó en un ensayo SPR comparativo. El anticuerpo se acopló con amina a un chip sensor de GLC en un instrumento Proteon XPR36 (BioRad). Se inyectaron ILT4 humano e ILT4 cyno 9152 como analitos en una serie de diluciones de 5 miembros y 5 veces con una concentración máxima de 1 μ M (concentración mínima de 1.6 nM). Todos los datos fueron doblemente referenciados, exportados y analizados con BIAevaluation Software 4.1.1 utilizando el modelo de titulación cinética descrito por Karlsson et al (Karlsson et al. (2005) Analytical Biochem. 349:136). El tampón de ejecución consistía en HEPES 10 mM pH 7.4, NaCl 150 mM y Tween-20 al 0.05%. La temperatura del ensayo fue de 37°C.

Los resultados, que se muestran en la Tabla 5, muestran que 21D9.e se unió a ILT4 cyno 9152 con afinidad aproximadamente 11 veces más débil que ILT4 humano (valores K_D de 3.5 nM para cyno y 0.33 nM para ILT4 humano). De manera similar, el anticuerpo parental, 21D9, se unió a cyno con una afinidad aproximadamente 12 veces más débil que la ILT4 humana. La diferencia fue impulsada por una constante de velocidad de disociación más rápida para ILT4 cyno (valores K_D de 4.0 nM para cyno y 0.32 nM para ILT4 humano).

Tabla 5

Ligando	Analito	k_a (M ⁻¹ s ⁻¹)	k_d (s ⁻¹)	K_D (M)
21D9	cyLILR 9152	8.8E+05	3.5E-03	4.0E-09
21D9	hILT4	8.2E+05	2.6E-04	3.2E-10

21D9e	cyLILR 9152	7.3E+05	2.6E-03	3.5E-09
21D9e	hILT4	9.9E+05	3.3E-04	3.3E-10

EJEMPLO 17: Los anticuerpos ILT4 promueven la expresión de moléculas coestimuladoras y marcadores de activación en células dendríticas derivadas de monocitos cynomolgus *in vitro*

Este ejemplo muestra que los anticuerpos ILT4 21D9.e.IgG1.3 (ILT4.8 en la Fig. 32; ver Tabla 1) y 9G4. hIgG1.3 (ILT4.1 en la Fig. 32; ver Tabla 1) estimuló la expresión de CD80, CD83 y CD86 en células dendríticas derivadas de monocitos.

Se cultivaron monocitos aislados de PBMC de mono cynomolgus (microperlas CD14 de primates no humanos, Miltenyi) en presencia de 62.5 U / ml de GM-CSF humano recombinante (Peprotech) y 125 U/ml de IL-4 humano recombinante (Peprotech) durante 5 días. Los anticuerpos anti-ILT4 se añadieron al cultivo a 10 ug/ml en el momento en que se preparó el cultivo. Las células se tiñeron para determinar su nivel de expresión superficial de CD86, CD80 y CD83 usando anti-CD86 (clon # IT2.2, BioLegend), anti-CD80 (clon # L307) y anti-CD83 (clon # HIB15e). Las muestras se adquirieron en un citómetro Cytoflex® (Beckmen Coulter) y se analizaron con el software FlowJo™ (Tree Star, Inc, Ashland, OR).

Los resultados, que se muestran en las Figs. 32A-C, indican que los anticuerpos ILT4 21D9.e.IgG1.3 (también conocido como ILT4.8.IgG1.3; "ILT4.8" en la figura) y 9G4.IgG1.3 (también conocido como ILT4.1.IgG1.3; "ILT4.1" en la figura) promueven la expresión de moléculas coestimuladoras CD80 y CD86, así como el marcador de maduración de células dendríticas CD83 en DC derivadas de monocitos, como lo demuestra la sobrerregulación de CD80, CD83 y CD86 en las células dendríticas.

EJEMPLO 18: Anticuerpo anti-ILT4 modificado 10F10.4

La tirosina en F36Y en la cadena ligera de 10F10.1 y 10F10.3 (ver Ejemplo 2) se ubica cerca de la CDR3 de cadena pesada en el modelado de anticuerpos hILT4 y 10F10. Por lo tanto, la sustitución de F36 con Y podría provocar un choque con una isoleucina en la CDR3 de cadena pesada, como lo demuestra una velocidad de disociación más rápida de 10F10.1 y 10F10.3 en relación con 10F10 (ver Ejemplo 2). Se creó un mutante adicional en el que F36

de la cadena ligera no estaba mutado y la única mutación de la región marco de cadena ligera realizada en 10F10 fue T63S. La cadena pesada no tuvo mutaciones, al igual que la de 10F10. Este anticuerpo modificado es llamado 10F10.4 y la secuencia de aminoácidos de su cadena ligera se describe en la Tabla de Secuencias como SEQ ID NO: 116.

La cinética de unión de 10F10.4 se determinó a 37°C usando un instrumento Biacore® T200. El amortiguador de ejecución fue HEPES 10 mM pH 7.4 suplementado con Tween-20 al 0.05% y 1 g/l de BSA. Todos los anticuerpos anti-ILT4 se capturaron en un chip CM4 con anticuerpo de captura de Fc anti-humano preinmovilizado de Southern Biotech (número de catálogo 2081-01). Se inyectó ILT4 humano (marca hILT4-His-Avi descrita en el Ejemplo 2) a 1.2 uM (solo sobre 10F10, 10F10.4 y una réplica de 1E5 ILT4.15), 405 nM, 81 nM (por duplicado), 16 nM, 3 nM y 0.6 nM. Todos los datos fueron doblemente referenciados y ajustados a un modelo Langmuir 1:1 con transporte de masas usando el software de evaluación Biacore T200 versión 3.1.

Los resultados, que se muestran en la Tabla 6, indican que las cinéticas de unión de 10F10.4 son muy similares a las de 10F10. 21A5, 21A5a, 21D9 y 21D9.e se incluyeron como controles. Los valores absolutos difieren ligeramente de los valores mostrados en la Tabla 2, lo que se debe a los diferentes reactivos de captura utilizados en este ensayo.

Tabla 6

Ligando	Muestra	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmáx (RU)	Nivel de Ligando (RU)	Apl. act.
10F10	hILT4	1.2E + 06	2.6E- 02	2.2E- 08	35	50	100%
10F10.4	hILT4	1.2E + 06	2.7E- 02	2.2E- 08	33	41	117%
21A5	hILT4	5.2E + 05	1.2E- 05	2.3E- 11	81	119	98%
21A5.a	hILT4	4.9E + 05	1.7E- 05	3.6E- 11	76	109	100%

21D9	hILT4	1.1E + 06	5.4E- 04	5.0E- 10	31	65	70%
21D9.e	hILT4	1.0E + 06	5.8E- 04	5.8E- 10	101	154	94%

Se mostró que 10F10.4 es funcionalmente activo al potenciar la secreción de TNF α de macrófagos diferenciados *in vitro*. Esto se demostró incubando 10F10.4 con macrófagos diferenciados de monocitos de PBMC como se describe en el Ejemplo 8. También se incluyó 21D9.e, así como un control de isotipo. Los resultados, que se muestran en las Figuras 33A y B, indican que la presencia del anticuerpo 10F10.4 de ILT4 potenció la secreción de TNF α durante la diferenciación *in vitro* de monocitos en macrófagos mediante LPS o un agonista de STING.

EJEMPLO 19: 21D9.e tiene una potencia similar en el contexto de IgG1, IgG4 e IgG1.3

Este ejemplo muestra que la potencia de 21D9.e es similar en el contexto de una cadena pesada de IgG1, IgG4 (S228P) e IgG1.3.

Los anticuerpos 21D9.e se clonaron en el contexto de una IgG1, IgG4 (con S228P) o IgG1.3 (SEQ ID Nos: 176, 178 y 13, respectivamente) y se usaron en un ensayo que mide la secreción de TNF α , realizado como sigue.

Los resultados, que se muestran en la Figura 34, indican que una cantidad similar de TNF α se secreta para 21D9.e.IgG1, 21D9.e.IgG4.S228P y 21D9.e.IgG1.3. Por lo tanto, las regiones variables de 21D9.e tienen una potencia funcional similar en el contexto de estas diferentes regiones Fc. DT-1D12 es un control de isotipo.

EJEMPLO 20: 21D9e se une a los alelos de hILT4

Este ejemplo describe ensayos para determinar si 21D9.e se une a alelos alternativos de hILT4.

Solo se consideraron aquellos alelos que tienen una frecuencia superior al 1%. Se consideraron además dos alelos que tenían cambios de aminoácidos en las regiones D1 y D2: E161D y R103H (numeración de acuerdo con la SEQ ID NO: 107, es decir, ILT4 con secuencia señal). Como el modelado tridimensional mostró que ambos residuos de

aminoácidos no están cerca de la interfaz de unión con la MHC de clase I, no se esperaba que los cambios de aminoácidos en estos residuos afectaran la unión del anticuerpo a hILT4. Para confirmar esto, se elaboró una proteína hILT4 con las sustituciones E161D y R103H (hILT4 E161D/R103H) y se analizó para la unión a 21D9.e.IgG1.3 y 21A5.a.IgG1.3 (ILT4.9.IgG1.3; ver Tabla 1) vía Octet BLI. Se encontró que ambas proteínas se unían de manera similar a hILT4 E161D/R103H y a hILT4 E161/R103.

EJEMPLO 21: 21D9e.IgG1.3 no desencadena significativamente la activación de basófilos

El ensayo usado para la detección de la activación de basófilos por anticuerpos anti-ILT4 involucró los siguientes pasos. El ensayo se realizó utilizando la metodología de Buhlmann Laboratories AG utilizada en la prueba de activación de basófilos Flow CAST®, generalmente de la siguiente manera. Se detectaron basófilos humanos, derivados de sangre de donantes, usando anti-Ccr3. CD63 se utilizó como indicador de la activación de basófilos. El amortiguador de estimulación y los anticuerpos se añadieron a sangre completa. Después de la incubación, se añadieron reactivos de tinción a la sangre; y después de la incubación del anticuerpo, se lisaron los eritrocitos y las muestras se centrifugaron, lavaron y analizaron en un BD FACS Canto II.

Con base en este ensayo, se midieron los basófilos activados Ccr3+CD63+ de 8 donantes mediante FACS después de la incubación con 21D9.e.IgG1.3 (ILT4.8.IgG1.3; ver Tabla 1) 21.5Aa.IgG1.3, (ILT4 .9.IgG1.3) o anti-DT a 4.5, 45.45 o 454.55 µg/mL durante 180 minutos. Los controles positivos incluyeron anti-FcεRI y fMLP (N-formilmetionina-leucil-fenilalanina). El control negativo fue DT1DT12-IgG1.3, que se dirige a un antígeno irrelevante, toxina diftérica.

Los resultados, que se muestran en la Fig.36, indican que 21D9.e.IgG1.3 (ILT4.8.IgG1.3) y 21.5Aa.IgG1.3 (ILT4.9.IgG1.3) no inducen la activación de basófilos en las condiciones analizadas. La falta de activación de basófilos representa una característica de seguridad importante.

EJEMPLO 22: El anticuerpo anti-ILT4 21D9.e.IgG1.3 es estable

Este Ejemplo describe estudios de estabilidad de 3 meses realizados con el anticuerpo

anti-ILT4 21D9.e.IgG1.3 (también conocido como ILT4.8.IgG1.3), cuyos datos muestran que el anticuerpo es estable al menos durante 3 meses.

Se incubaron muestras de 21D9.e.IgG1.3 a 25 o 40°C a una concentración de 150 mg/ml. Las muestras se diluyeron con fase móvil (NaH₂PO₄ 40 mM, Na₂HPO₄ 60 mM, Na₂SO₄ 0.1 M, pH 6.8) a 1 mg/ml y se analizaron cuarenta microlitros usando un sistema de HPLC Agilent Serie 1200 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) usando un columna TSKgel Super3000SW (4.6 mm DI x 30 cm, 4 µm, Tosoh Bioscience, King of Prussia, PA) con un gradiente isocrático (fosfato de sodio 0.1 M, sulfato de sodio 0.1 M, pH 6.8 a 0.2 ml/min). La detección de UV se estableció a 280 nM.

Los resultados, que se muestran en la Fig.35, indican que la composición de anticuerpo 21D9.e.IgG1.3 (ILT4.8) comprende menos del 5% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 25°C y menos del 10% de especies de alto y bajo peso molecular después de 3 meses de incubación a 40°C.

EJEMPLO 23: Bloqueo cruzado de 2H2 y 21D9 por anticuerpos monoclonales anti-ILT4

Las células CHO que sobreexpresan ILT4 se preincubaron en primer lugar con diluciones en serie de anticuerpos anti-ILT4 no conjugados 10F10.IgG1.3 y 21A5.IgG1.3 (3 veces, 12 puntos, partiendo de 40 µg/ml). Se añadió anti-KLH-g1.1f (anticuerpo anti-hemocianina) como control de isotipo mientras que se añadió 2H2.IgG1.1f o 21D9.IgG1.1f no conjugado a 40 µg/ml como control positivo para demostrar la actividad de bloqueo. Después de un periodo de incubación de 30 minutos, se añadió PE conjugado con 2H2.IgG1.1f o 21D9.IgG1.1f a 1.5 µg/ml y se incubó con células durante otros 30 minutos. Después del lavado, las muestras se adquirieron en un citómetro FACSCanto™ (BD Bioscience, San Jose) y se analizaron con el software Flowjo™ (Tree Star, Inc, Ashland, OR).

Los resultados se muestran en la Fig. 37A (bloqueo cruzado de 2H2) y la Fig. 37B (bloqueo cruzado de 21D9). Los resultados indican que 10F10 y 21A5 bloquean cruzado (o compiten con) 2H2 por unirse a hILT4 (Fig. 37A) y que 10F10, pero no 21A5, bloquea cruzado (o compite con) 21D9 por unirse a hILT4 (Fig. 37B). Por lo tanto, (i) 21A5 y 2H2 están en el mismo grupo de unión (es decir, compiten entre sí por unirse a hILT4); (ii) 21D9 está en un grupo de unión separado del de 21A5 / 2H2; y (iii) 10F10 compite con 21D9 y 2H2 / 21A5 por unirse a hILT4.

En la Fig. 37C se muestra un diagrama que muestra las regiones de unión de hILT4 de los anticuerpos en la estructura cristalina de hILT4. El dominio tipo Ig 1 corresponde a los residuos de aminoácidos 27-110 de la SEQ ID NO: 107, mientras que el dominio tipo Ig 2 corresponde a los residuos de aminoácidos 111-229 de la SEQ ID NO: 107. Estos dos dominios se muestran en forma de cinta en la Fig. 37C. Los resultados de estos experimentos indican que el anticuerpo 21D9 se une al dominio tipo Ig 1, los anticuerpos 2H2 y 21A5 se unen al dominio tipo Ig 2 y el anticuerpo 10F10 se une a una región que se encuentra en el dominio tipo Ig 2, cerca del dominio tipo Ig 1, y pueden competir con anticuerpos que se unen al dominio tipo Ig 1 o al dominio tipo Ig 2. Se espera que los anticuerpos que difieren de los anticuerpos usados en estos experimentos solo por mutaciones de la línea germinal (por ejemplo, 21D9.e, 29A5.a y 10F10.3 y 10F10.4) se unan a la misma región que sus anticuerpos parentales (21D9, 29A5 y 10F10, respectivamente).

Ejemplo 24: Mapeo de epítomos usando huella química de carbeno

Los reactivos para ILT4 humano y clones Fab de anticuerpo anti-ILT4 humano 10F10, 21D9 y 21A5 se intercambiaron con amortiguador en Tris-HCl 100 mM y NaCl 50 mM a pH 7.5 a 1 mg/ml. Se prepararon complejos individuales de ILT4 humana y cada Fab de anticuerpo ILT4 anti-humano mezclando en una relación 1:1. Experimentos por triplicado de 5 ug de ILT4 y 10 ug de los complejos se mezclaron 1:1 con ácido 4-[3-(trifluorometil)-3H-diazirin-3-il] benzoico 20 mM en Tris-HCl 100 mM y NaCl 50 mM a pH 7.5. Las mezclas resultantes se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido. Todas las muestras se colocaron en hielo seco y se irradiaron con luz (300-800 nm) de una caja de luz Atlas Suntest® CPS+ durante 20 minutos para permitir la modificación covalente de la proteína por el reactivo de diazirina. Las muestras irradiadas se redujeron, alquilaron y digirieron con quimotripsina. El análisis de LC-MS/MS se realizó en un espectrómetro de masas Orbitrap Fusion Lumos® usando una columna Waters BEH C18. Se utilizó un gradiente lineal de 60 minutos a 10 µl/min de amortiguador B al 0-35% (A: agua con ácido fórmico al 0.1%; B: acetonitrilo con ácido fórmico al 0.1%) para separar los péptidos. El eluyente resultante se mezcló con 2 µl/min de acetonitrilo mezclado con alcohol 3-nitrobencílico al 0.6%. Los péptidos modificados se identificaron y cuantificaron utilizando Byonic® y Byologic® de Protein Metrics. Se utilizaron la resolución cromatográfica y las identificaciones MS/MS para localizar y confirmar los

aminoácidos modificados.

Las diazirinas son compuestos fotoactivos que pueden reaccionar con cualquier enlace C-H en los 20 aminoácidos. La modificación covalente resultante puede separarse cromatográficamente de otros sitios de aminoácidos en el mismo péptido. Se usaron comparaciones de las áreas de pico por triplicado para los péptidos no modificados y los péptidos modificados individualmente para determinar las diferencias en el marcado de diazirina para los clones de anticuerpos 10F10, 21A5 y 21A9 para identificar el epítipo del anticuerpo. Los péptidos con > 50% de disminución en el marcado en uno o más complejos se consideraron significativos y se usaron para localizar los epítipos de anticuerpos. Péptidos significativos, o en los casos en los que no se pudo realizar la comparación con el péptido no modificado debido a un sitio de escisión enzimático perdido, el cromatograma de péptido modificado para todas las muestras se comparó entre sí con disminuciones de > 50% de los cromatogramas de elución de pico de péptido individuales siendo utilizado para determinar aminoácidos modificados diferencialmente que están protegidos por el epítipo del anticuerpo. Los espectros de MS/MS de los aminoácidos modificados diferencialmente se confirmaron manualmente mediante MS/MS y se marcaron en la estructura de cristalografía de rayos X de ILT4 humano (PDB: 2DYP). (Fig. 37D.) Se encontró que el epítipo del anticuerpo para el clon 21D9 tiene marcado diferencial en dos sitios individuales de 1 y 3 aminoácidos en el dominio 1 de ILT4 humano y está marcado en rojo y violeta (debido a un sitio superpuesto con 10F10). Se encontró que el epítipo de anticuerpo para el clon 10F10 tenía marcado diferencial en seis sitios individuales de 1-2 aminoácidos en el dominio 1 y el dominio 2 de ILT4 humano y como se marca en la Fig. 37D (debido a sitios superpuestos con 21A5 y 21D9). Se encontró que el epítipo del anticuerpo para el clon 21A5 tenía un marcado diferencial en 11 sitios individuales de 1-4 aminoácidos en el dominio 2 de ILT4 humano, como también se marca en la Fig. 37D (debido a un sitio superpuesto con ambos 10F10).

Los residuos de aminoácidos de hILT4 Gly117, Val119, Try120, Leu134, Lys136, Gln149, Pro150, Ile159, Ser161, Val162, Gly163, Pro164, Pro167, His173, Try178, Pro183 y Tyr184 se representan como bolas en la Fig. 37D con respecto al anticuerpo 21A5. Los residuos Glu42, Lys43, Gly76, Cys77, Leu88, Pro91, Pro183 y Tyr184 se representan en la Fig. 37D con respecto al anticuerpo 10F10. Los residuos Lys43, Ile49, Thr50 y Arg51 se

representan con respecto al anticuerpo 21A9.

Tabla de secuencias

La que sigue a continuación es una tabla de ciertas secuencias a las que se hace referencia en esta solicitud. Diversas secuencias que se muestran a continuación también se proporcionan en las Figuras 1-15 y las CDR VH y VL para los anticuerpos se indican en las Figuras 1-15. Dentro de las secuencias LC y HC proporcionadas más adelante, las secuencias VL y VH constituyentes están subrayadas y en negrita. Dentro de las secuencias VL y VH a continuación, las CDR están subrayadas y en negrita, como también se ilustra en las Figuras 1-12, y dentro de determinadas secuencias VH y VL, se ilustran mutaciones de reversión. (Véanse también las Figuras 13-15 para ilustración de mutaciones de reversión.) En algunos casos, las mutaciones de reversión están sombreadas o en negrita y subrayadas y sombreadas en gris.

SE Q ID NO	Nombre	Secuencia
1	9G4 kappa LC (denomina da ILT4.1- kappa)	<u>EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQ</u> <u>APRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAGY</u> <u>YCQQRSYWPWTFGQGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

2	9G4- IgG1.1f HC (denomina da ILT4.1- IgG1.1f)	<u>QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWNWIRQPPG</u> <u>KGLEWLGYYYSGSTKYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVT</u> <u>AADTAVYYCASSGWYFDYWGGTGLTVTVSS</u> ASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
3	9C8 kappa LC ILT4.2- kappa	<u>AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKA</u> <u>PKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY</u> <u>CQQFNSTPFTFGPGTKVDIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
4	9C8- IgG1.1f HC ILT4.2- IgG1.1f	<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSDINWVRQATG</u> <u>QGLEWMGMNPNSGHTGYAQKFQDRVTLTRDTSISTAYMEL</u> <u>SSLRSEDSAVYYCARGGNSIDWGFSYYGLDVWGQGTTVTVSS</u> ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5	2H2 kappa LC ILT4.3- kappa	<u>EIVLTQSPGTL</u>SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG <u>QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV</u> <u>YYCQQYGSSYTFGQG</u>TKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
6	2H2- IgG1.1fHC ILT4.3- IgG1.1f	<u>QVQLVQSGAEVKKPGSSVEVSCKASGGTFSNYAISWVRQAP</u> <u>GQGLEWMGGIIPILATANYAPKFQGRVTITADEFTSSAYMELSS</u> <u>LRSEDTAVYYCAKSSITMIRGAYLYYYDGM</u>DVWGQGTTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
7	2E5 kappa LC ILT4.4- kappa	<u>EIVLTQSPATL</u>SLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ <u>APRLLIYDASN</u>RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVY <u>YCQQRSNWPPWTFGQG</u>TKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C

8	2E5- IgG1.1f HC ILT4.4- IgG1.1f	<u>QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCTASGFTFSNYGMHWVRQAP</u> <u>GKGLEWVAVIWYDGSNEYAESVKGRLTISRDN SKNTLYLQV</u> <u>NSLRAEDTAVYYCARDPFYGS GNYFDYWGQGTLVTVSS</u> ASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
9	24E5 kappa LC ILT4.5- kappa	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEK</u> <u>APKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATY</u> <u>YCQQYNSYPLTFGGGT KVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
10	24E5- IgG1.1 HC ILT4.5- IgG1.1f	<u>EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYVMSWVRQAP</u> <u>GKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQM</u> <u>NSLRAEDTAVYYCAKDQDIIAAYYFVYWGQGTLVTVSS</u> ASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

11	21D9 kappa LC ILT4.6- kappa	<u>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG</u> <u>QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV</u> <u>YYCQQYGSSPLTFGGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
12	21D9- IgG1.1f HC ILT4.6- IgG1.1f	<u>EGQLLESGGDLVQPGGSLRLSCATSGFTFSNYAMNWVRQAP</u> <u>GKGLEWISVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN</u> <u>SLRAEDTAVYYCAKDY YD SG SY YD SFFDYWGQGTLVTVSSA</u> STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
13	21D9.e.Ig G1.3 HC ILT4.8.IgG 1.3	<u>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAP</u> <u>GKGLEWVSVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN</u> <u>SLRAEDTAVYYCAKDY YD SG SY YD SFFDYWGQGTLVTVSSA</u> STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

14	21A5 kappa LC	<u>EIALTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG</u> <u>QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV</u> <u>YYCQQYGSTFGGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	21A5.IgG1 .3 HC	<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYLHWVRQAP</u> <u>GQGLEWMGIFHPSGDITSSAQNFQGRVTMIRDTSTSTVYMELS</u> <u>SLRSED TAVYYCARGGVLR YLDWSHAFDIWGQGTMTVSSAS</u> TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
16	21A5.1 kappa LC (ILT4.9.1K)	<u>EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPG</u> <u>QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV</u> <u>YYCQQYGSTFGGGTKVEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

17	21A5.a.Ig G1.3 HC (ILT4.9.Ig G1.3)	<u>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYLHWVRQAP</u> <u>GQGLEWMGIFHPSGDITSSAQNFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEL</u> <u>SSLRSED TAVYYCARGGV LRYLDWSHAFDIWGQGTMVTVSSA</u> STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
18	10F10 kappa LC	<u>AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWFQQKPGKA</u> <u>PKLLIYDASSLESGVPSRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY</u> <u>CQQFNSYPITFGQGTRLEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	10F10.IgG 1.3 HC ILT4.10.Ig G1.3	<u>QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAP</u> <u>GKGLEWVAIISYDEYNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN</u> <u>SLRAEDTAVYYCAREWVGIRYWGQGT LTVSS</u> ASTKGPSVF LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR VEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG

20	10F10.1 kappa LC	<u>AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPGKA</u> <u>PKLLIYDASSLESGVPSRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY</u> <u>CQQFNSYPITFGQGTRLEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
21	10F10.3 kappa LC	<u>AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPGKA</u> <u>PKLLIYDASSLESGVPSRFTGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY</u> <u>CQQFNSYPITFGQGTRLEIK</u> RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
22	9G4 ADN LC ADN ILT4.1- kappa	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGC CAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCGTCCAACAGGGC CACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATT TTGCAGGTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCTACTGGCCGTGG ACGTTCCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACGGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATA ACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCT GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

23	9G4 IgG1.1f ADN HC ADN ILT4.1- IgG1.1f	CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGC CTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCACTGTCTCTGGTGGC TCCATCAGTAGTTACTACTGGAAGTGGATTCGGCAGCCCCCA GGAAGGGACTGGAGTGGCTTGGGTACATCTATTACAGTGG GAGTACCAAGTACAACCCCTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCAT ATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAG CTCTGTGACCGCTGCGGACACGGCCGTGTATTATTGTGCCA GCAGTGGCTGGTACTACTTTGACTATTGGGGCCAGGGAACC CTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGT CTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAA CCGGTGACGGTGTCGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCG GCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTC TACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCA GCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGT GACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGC CGAAGGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTAAACCCA AGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTT CAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGA CAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGT GGTGAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATG GCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCA AGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAA AGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACC GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGA AGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
----	---	--

24	9C8 kappa ADN LC ADN ILT4.2- kappa	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAG TGGGGTCCCATCAAGGTTTACGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCATTCACTTT CGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGA AATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCT ATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCC CTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGA CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGC TGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGC GAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAG CTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
----	--	---

25	ADN 9C8 IgG1.1f ADN ILT4.2- IgG1.1f	CAGGTGCAACTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTAAAGAAGCC TGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACA CCTTCACCAGCTCTGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTAACAG TGGTCACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGACAGAGTCA CCTTGACCCGGGACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAG CTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACTCGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGGTGGGAATAGCATTGACTGGGGGTTCTCCTACT ACGGTCTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGG CACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCT GGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACAC CTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAA GGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTC ACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGC CCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCT CATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGG ACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTAC GTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC CTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCA CAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAA GAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATC CCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCC GGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATG CATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCCCCGGGTAAATGA
----	---	---

26	2H2 kappa ADN LC ADN ILT4.3- kappa	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCGTAC ACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTACGGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAA CTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATA ACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCT GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACG CCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACA AAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
----	--	---

27	2H2 IgG1.1f ADN HC ADN ILT4.3- IgG1.1f	CAGGTCCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCC TGGGTCCTCGGTGGAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGGGGCA CCTTCAGCAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCCATCTT GGCTACAGCAAACCTACGCACCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCA CGATTACCGCGGACGAATTCACGAGCTCAGCTTACATGGAG CTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAAGTCTAGTATTACTATGATTCGGGGAGCCTATCTTTA CTACTACGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG GTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTT CCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAG CGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCG GTGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCG TGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACT CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCA ACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGAC AAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGA AGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTG GTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGT CAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCA AGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGC AGCATCGAGAAAACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCG AGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGG ACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCGGGTAAATGA
----	---	--

28	2E5 kappa ADN LC ADN ILT4.4- kappa	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGC CAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGC CACTGGCATCCCAGCCAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGA CAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATT TTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGT GGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAACGTACG GTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAG CAGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAAT AACTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAG AGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACC CTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTA CGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCA CAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
----	--	--

29	2E5 IgG1.1f ADN HC ADN ILT4.4- IgG1.1f	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGC CTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCGTCTGGATTC ACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCAGTTATCTGGTATGATG GAAGTAATGAATACTATGCAGAATCCGTGAAGGGCCGACTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA GTGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTATTG TGCGAGAGATCCTTTCTATGGTTCGGGGAATTACTTTGACTA CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCAGTCTTCCTC TTCCCCCCTCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC CAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCT GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCG TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAA GACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTA AATGA
----	---	--

30	24E5	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCT
	kappa	GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGG
	ADN LC	TATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAA
5	ADN	AGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG
	ILT4.5-	TGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG
	kappa	ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG
		CAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCTCTCACTTT
10		CGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCT
		GCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG
		AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTC
		TATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGC
15		CCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGG
		ACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG
		CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTG
		CGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGA
		GCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

20

25

30

35

31	24E5 IgG1.1f ADN HC ADN ILT4.5- IgG1.1f	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTG ACCTTTAGCAGCTATGTCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTG GTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTA TGC GAAAGATCAGGATATTATAGCAGCATACTACTTTGTCTA CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCA CCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAG AGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGA ACTCAGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCC TACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAG TTGAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCGT GCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCGTCAGTCTTCCTC TTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGAC CCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAA GACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCAC CAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTC CAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAAACCATCTCCA AAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG CCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCT GACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCG TGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACA ACTACAAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCC TCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAG GGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCA CAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTA AATGA
----	--	--

32	21D9 kappa ADN LC ADN ILT4.6- kappa	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCT CTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTAC GGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGA GCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAA TAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGG ATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACA GAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC TACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGT CACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
----	--	---

33	21D9 IgG1.1f ADN HC ADN ILT4.6- IgG1.1f	GAGGGACAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTACAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTC ACCTTTAGCAACTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCTCAGTTATTAGTGTTAGTG GTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA ATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTG TGCGAAAGATTATTACTATGATTCGGGGAGTTATTATGACTCT TTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTC CTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA TGCCACACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGCCCCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGA TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAAGCAGCATCGAGAAA ACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA ACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGTAAATGA
----	--	--

34	21D9.IgG1 .3 ADN HC ILT4.6- IgG1.3 ADN HC (la región variable está subrayada y en negrita)	GAGGGACAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTACAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCT ACCTTTAGCAACTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCTCAGTTATTAGTGTTAGTG GTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTT CACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGC AAATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTA CTGTGCGAAAGATTATTACTATGATTCTGGGGAGTTATTATG ACTCTTTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACC GTCTCCTCA GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCAG TCTTCCTCTTCCCCCCTTCCCAAGGACACCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCC
----	--	--

35	21D9.b.lg G1.3 ADN HC	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCACCTCTGGCTTC ACATTTTCCAACCTATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACCT GGCAAGGGACTGGAGTGGATCTCTGTGATCTCTGTGAGCGG CGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGT GCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTCC TTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA TGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGA TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA ACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGTTGA
----	-----------------------------	--

36	21D9.b.lg G1.3 ADN HC	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWISVISVSGGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDYYD SGSYYDSFFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYK TTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
----	-----------------------------	---

37	21D9.c.lg G1.3 ADN HC	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGACCTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCGCCTCTGGCTT CACATTTTCCAACATATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACC TGGCAAGGGACTGGAGTGGATCTCTGTGATCTCTGTGAGCG GCGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTG TGCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTC CTTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGA GCTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCA CCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTT CCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGG TGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACA CATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCC GTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCAT GATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACG TGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGG AGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTC ACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGA AAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAA CCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCA GGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCT GTCCCCGGGTTGA
----	-----------------------------	---

38	21D9.c.lg G1.3 HC	EVQLLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWISVISVSGGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDYYD SGSYYDSFFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAE GAPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYK TTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
----	----------------------	--

39	21D9.d.lg G1.3 ADN HC	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGACCTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCACCTCTGGCTTC ACATTTTCCAACCTATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACCT GGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCTGTGATCTCTGTGAGCGG CGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGT GCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTCC TTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAG CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCAC CCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGG CTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGT CGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTC CCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAG CGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCT ACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA TGCCCAACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGT CAGTCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGA TCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAG GAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCAC CGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGT GTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGA ACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGC TCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGA GGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGT CCCCGGGTTGA
----	-----------------------------	---

40	21D9.d.Ig G1.3 HC	EVQLLESGGDLVQPGGSLRLSCATSGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWVSVISVSGGSTYY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDYYD SGSYYSFFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYK TTP PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
----	----------------------	---

41	21D9.e.Ig G1.3 ADN HC ILT4.8.IgG 1.3 ADN HC Con péptido señal (la secuencia codificante de péptido señal está subrayada)	ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAG AGCGCTCGCAGAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGC CTCTGGATTACCTTTAGCAACTATGCCATGAACTGGGTCCG CCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGTTATTA GTGTTAGTGGTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAG GGCCGGTTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCT GTATCTGCAAATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCG TATATTACTGTGCGAAAGATTATTACTATGATTCGGGGAGTTA TTATGACTCTTTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGT CACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAG GGGCCCCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCC AAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCC CATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAG AACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGA CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTCTCCCGCCCT
----	---	---

42	21A5 ADN LC (secuencia codificante de región variable subrayada y en negrita)	<u>GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGGCACACTGTCTCTGA</u> <u>GCCCAGGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGAGCCTCCCA</u> <u>GTCTGTGAGCTCCTCTTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGC</u> <u>CAGGACAGGCACCTAGGCTGCTGATCTACGGAGCCAGCTC</u> <u>CAGGGCAACCGGCATCCCTGACCGCTTCAGCGGCTCCGGC</u> <u>TCTGGCACAGACTTCACCCTGACAATCTCTAGGCTGGAGCC</u> <u>CGAGGACTTCGCCGTGTACTATTGTCAGCAGTATGGCTCCA</u> <u>CCTTTGGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG</u> GAATTCGCCACCATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGC CTGGCCGGGCGCGCCCTCGCAGAGATCGTGCTGACCCAGA GCCAGGCACACTGTCTCTGAGCCCAGGAGAGAGGGCCAC CCTGTCCTGCAGAGCCTCCCAGTCTGTGAGCTCCTCTTACCT GGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGACAGGCACCTAGGCTG CTGATCTACGGAGCCAGCTCCAGGGCAACCGGCATCCCTGA CCGCTTCAGCGGCTCCGGCTCTGGCACAGACTTCACCCTGA CAATCTCTAGGCTGGAGCCCGAGGACTTCGCCGTGTACTAT TGTGAGCAGTATGGCTCCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGGT GGAGATCAAGCGTACGGTGGCCGCCCCGTCCGTGTTTATCT TCCCTCCATCGGACGAGCAGCTCAAGTCCGGTACCGCGAGC GTGGTCTGCCTGCTGAACAATTTCTACCCGCGCGAAGCTAAA GTGCAATGGAAGGTCGATAACGCACTTCAGTCCGGGAACAG CCAGGAATCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTGACCT ATTCCCTGTCCTCGACTCTCACCCTGTCAAAGGCCGACTACG AGAAGCACAAGGTCTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGC TTGTCCTCACCCGTGACTAAGAGCTTCAACCGGGGAGAGTG TTAGTGA
----	---	--

43	21A5.IgG1 .3 ADN HC (región variable en negrita y subrayada)	<u>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAGGTGAAGAAG</u> <u>CCAGGAGCCTCTGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCT</u> <u>ACACCTTCACAGATTACTATCTGCACTGGGTGCGGCAGGCA</u> <u>CCAGGACAGGGACTGGAGTGGATGGGCATCTTCCACCCTT</u> <u>CTGGCGACATCACAAGCTCCGCCCAGAACTTTCAGGGCCG</u> <u>GGTGACCATGACAAGAGATACCAGCACATCCACCGTGTAC</u> <u>ATGGAGCTGTCTAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGT</u> <u>ACTATTGTGCAAGGGGAGGCGTGCTGAGGTATCTGGACTG</u> <u>GAGCCACGCCTTTGATATCTGGGGCCAGGGCACAATGGTG</u> <u>ACCGTGTCTCT</u> GCTAGCACCAAAGGACCTTCAGTGTTCCCGCTCGCGCCGTC ATCCAAGTCCACCTCCGGCGGAACCGCTGCCCTGGGATGCC TTGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACTGTGTCCTGGA ACTCCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCATACCTTCCCTGCT GTGCTGCAATCAAGCGGCCTCTACTCATTGAGCTCCGTCGT GACCGTGCCGAGCTCCAGCCTCGGTACTCAAACCTACATCT GCAATGTCAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTCGATAAG AGAGTGGAGCCCAAGTCGTGCGACAAGACTCACACTTGTCC CCCATGCCCCGGCCCCCGAGGCCGAGGGGGCCCCGAGCGT CTTTCTGTTCCCGCCTAAGCCCAAGGATACCCTGATGATTTC GCGGACTCCCGAAGTGACCTGTGTCGTGGTGGACGTGTCCC ACGAAGATCCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGA GTCGAGGTGCACAACGCAAAGACCAAGCCTCGCGAGGAACA GTACAACTCGACCTATCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGC TGCATCAGGACTGGCTCAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAA GTGTCCAACAAGGCCCTGCCAGCGCCCATTGAAAAGACTAT CAGCAAGGCCAAGGGGCAGCCAAGGGAACCCCAAGTGTAC ACCCTGCCTCCGTCCCGCGAAGAAATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACGTGCTTGGTCAAGGGCTTTTACCCTTCCGACAT CGCCGTGGAGTGGGAGTCGAACGGGCAGCCGGAACAAC TACAAGACCACTCCACCGGTGCTCGACTCGGATGGCTCGTT CTTCCTGTATTCTGAAGCTGACTGTGACAAAAGCCGGTGGC AGCAGGGCAATGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCATGAGGCC CTCCACAACCACTACACCCAGAAGTCTCTGAGCCTTTCCCCG CGATCA
----	---	---

44	21A5.1 kappa ADN LC ADN (ILT4.9.1K) Con péptido señal	ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCG CGCCTTGGCCGAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCC TGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGG GCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCA GCAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTG CATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGC AGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACT GGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGG TAGCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTA CGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATG AGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGA ATAAGTTCTATCCCAGAGAGGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTG GATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTAC AGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTC TACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGT CACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
----	--	--

45	21A5.a.Ig G1.3 ADN HC ADN (ILT4.9.Ig G1.3) Con péptido señal	ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGAG AGCGCTCGCACAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAG GTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGC ATCTGGATACACCTTCACCGACTACTATTTGCACTGGGTGCG ACAGGCCCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATATTCC ACCCTAGTGGTGATATCACAAGCTCCGCACAGAACTTCCAG GGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACGTCCACGAGCACAGT CTACATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCG TGTATTACTGTGCGAGAGGAGGCGTGCTGAGGTATCTGGAC TGGAGCCATGCTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGT CACCGTCTCTTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCC CCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGC GGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGG TGACGGTGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGT GCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTC CCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAA AACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAG GGGCCCCGTCAGTCTTCTTCTTCCCCC AAAACCCAAGGAC ACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAG CCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCC CATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAG AACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATG ACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGG CAGCCGGAGAACA ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGA CTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGA CAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCG TGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGC CTCTCCCTCTCCCGCCCT
----	--	--

46	10F10 kappa ADN LC ADN ILT4.10K Con péptido señal	ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCG CGCCCTCGCAGCCATCCAGCTGACCCAGTCTCCTAGCTCCC TGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGA GCCTCCCAGGGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTTCCAGCA GAAGCCAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGCCT CCTCTCTGGAGAGCGGAGTGCCATCCAGGTTACCGGCTCC GGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCA GCCAGAGGATTTTGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACAG CTATCCCATCACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCA AGCGTACGGTGGCCGCCCCGTCCGTGTTTATCTTCCCTCCA TCGGACGAGCAGCTCAAGTCCGGTACCGCGAGCGTGGTCT GCCTGCTGAACAATTTCTACCCGCGCGAAGCTAAAGTGCAAT GGAAGGTCGATAACGCACTTCAGTCCGGGAACAGCCAGGAA TCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTTCGACCTATTCCCT GTCCTCGACTCTCACCTGTCAAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAGGTCTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCTTGTCC TCACCCGTGACTAAGAGCTTCAACCGGGGAGAGTGT
----	--	---

47	10F10.IgG	ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCG
1.3	ADN	CGCCCTCGCACAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGAGGAGGA
HC		GTGGTGCAGCCAGGCCGGTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCG
ADN		CCAGCGGCTTCACCTTTAGCTCCTACGCAATGCACTGGGTG
5	ILT4.10.Ig	AGGCAGGCACCTGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCCATCA
G1.3		TCAGCTACGACGAGTATAACAAGTACTATGCCGATTCCGTGA
		AGGGCAGGTTCACCATCTCCCGCGACAACCTCTAAGAATACA
	Con	CTGTACCTGCAGATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGATACAGC
10	péptido	CGTGTACTATTGTGCCCGGGAGTGGGTGGGCATCAGATATT
	señal	GGGGCCAGGGCACCCTGGTGACAGTGTCTAGCGCTAGCAC
		CAAAGGACCTTCAGTGTTCCCGCTCGCGCCGTCATCCAAGT
		CCACCTCCGGCGGAACCGCTGCCCTGGGATGCCTTGTGAAG
15		GACTACTTCCCTGAGCCTGTGACTGTGTCCTGGAACCTCCGG
		AGCCCTGACCTCCGGCGTGCATACCTTCCCTGCTGTGCTGC
		AATCAAGCGGCCTCTACTCATTGAGCTCCGTCGTGACCGTG
		CCGAGCTCCAGCCTCGGTACTCAAACCTACATCTGCAATGTC
20		AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTCGATAAGAGAGTGGA
		GCCCAAGTCGTGCGACAAGACTCACACTTGTCCCCCATGCC
		CGGCCCCCGAGGCCGAGGGGGCCCCGAGCGTCTTTCTGTT
		CCCGCCTAAGCCCAAGGATACCCTGATGATTTTCGCGGACTC
25		CCGAAGTGACCTGTGTGTCGTGGTGGACGTGTCCCACGAAGAT
		CCCGAAGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGAGTCGAGGT
		GCACAACGCAAAGACCAAGCCTCGCGAGGAACAGTACAACCT
		CGACCTATCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCATCAG
30		GACTGGCTCAACGGAAAGGAGTACAAGTGCAAAGTGTCCAA
		CAAGGCCCTGCCAGCGCCCATTGAAAAGACTATCAGCAAGG
		CCAAGGGGCAGCCAAGGGAACCCCAAGTGTACACCCTGCCT
		CCGTCCCGCGAAGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGAC
35		GTGCTTGGTCAAGGGCTTTTACCCTTCCGACATCGCCGTGG
		AGTGGGAGTCGAACGGGCAGCCGGAAAACAACCTACAAGACC
		ACTCCACCGGTGCTCGACTCGGATGGCTCGTTCTTCCTGTAT
		TCGAAGCTGACTGTGACAAAAGCCGGTGGCAGCAGGGCAA
		TGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTCCACAACCA
		CTACACCCAGAAGTCTCTGAGCCTTTCCCCGGGA

48	10F10.1 kappa ADN LC	GCCATCCAGCTGACCCAGTCTCCTAGCTCCCTGTCTGCCAG CGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCCCAG GGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTATGATGCCTCCTCTCTGGA GAGCGGAGTGCCATCCAGGTTACCGGCTCCGGCTCTGGC ACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCAGAGGAT TTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACAGCTACCCCATC ACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCAAGCGTACGGT GGCCGCCCCGTCCGTGTTTATCTTCCCTCCATCGGACGAGC AGCTCAAGTCCGGTACCGCGAGCGTGGTCTGCCTGCTGAAC AATTTCTACCCGCGCGAAGCTAAAGTGCAATGGAAGGTCGAT AACGCACTTCAGTCCGGGAACAGCCAGGAATCTGTGACCGA GCAGGACTCCAAGGATTGACCTATTCCCTGTCCTCGACTCT CACCTGTCAAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTCTACG CCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCTTGTCTCACCCGTGACT AAGAGCTTCAACCGGGGAGAGTGT
----	----------------------------	--

49	10F10.3 kappa ADN LC ADN ILT4.11K Con péptido señal	ATGAGGGCTTGGATCTTCTTTCTGCTCTGCCTGGCCGGGCG CGCCCTCGCAGCCATCCAGCTGACCCAGTCTCCTAGCTCCC TGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGA GCCTCCCAGGGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTACCAGCA GAAGCCAGGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGATGCCT CCTCTCTGGAGAGCGGAGTGCCATCCAGGTTCAAGCGGCTCC GGCTCTGGCACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCA GCCAGAGGATTTTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACAG CTACCCCATCACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCA AGCGTACGGTGGCCGCCCCGTCCGTGTTTATCTTCCCTCCA TCGGACGAGCAGCTCAAGTCCGGTACCGCGAGCGTGGTCT GCCTGCTGAACAATTTCTACCCGCGCGAAGCTAAAGTGCAAT GGAAGGTCGATAACGCACTTCAGTCCGGGAACAGCCAGGAA TCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTTCGACCTATTCCCT GTCCTCGACTCTCACCTGTCAAAGGCCGACTACGAGAAGC ACAAGGTCTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCTTGTCC TCACCCGTGACTAAGAGCTTCAACCGGGGAGAGTGT
50	9G4 VL ILT4.1K VL (incluyend o la secuencia señal, residuos 1- 18)	APAQLLFLLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQ</u> <u>SVSSYLA</u> WYQQKPGQAPRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTD FTLTISSELPEDFAGYYC <u>QQRSYWPWT</u> FGQGTKVEIK

51	9G4.IgG1. 1 VH ILT4.1.IgG 1.1 VH (incluyend o la secuencia señal, residuos 1- 19)	MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTV SGGSIS <u>SYW</u> NWIRQPPGKGLEWLG <u>YIYSGSTKYNPSLKS</u> RV TISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASS <u>SGWYFDY</u> WGQGT LVTVSS
52	9G4 ADN VL ILT4.1K ADN VL	GCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTCCCA GATACCACCGGAGAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCAC CCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCA GGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAA CAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGC GTCCAACAGGGCCACTGGCATCCCAGCCAGGTTTCAGTGGCA GTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTA GAGCCTGAAGATTTTGCAGGTTATTACTGTCAGCAGCGTAGC TACTGGCCGTGGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAAT CAAA

53	9G4.IgG1. 1 ADN VH ILT4.1.IgG 1.1 ADN VH	ATGAAACATCTGTGGTTCTTCCTTCTCCTGGTGGCAGCTCCC AGATGGGTCCTGTCCCAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCC CAGGACTGGTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGC ACTGTCTCTGGTGGCTCCATCAGTAGTTACTACTGGAAGTGG ATCCGGCAGCCCCCAGGGAAGGGACTGGAGTGGCTTGGGT ACATCTATTACAGTGGGAGTACCAAGTACAACCCCTCCCTCA AGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACGTCCAAGAACCAG TTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCTGCGGACACGGC CGTGTATTATTGTGCCAGCAGTGGCTGGTACTACTTTGACTA TTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
54	9C8 kappa VL ILT4.2K VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQGISSALAWY</u> QQKPGKA PKLLIY <u>DASSLES</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY C <u>QQFN</u> SYPFTFGPGTKVDIK
55	9C8.IgG1. 1 VH ILT4.2.IgG 1.1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT <u>SSDIN</u> WVRQATG QGLEWMG <u>WMNPNSGHTGYAQKFQD</u> RVTLTRDTSISTAYMEL SSLRSEDSAVYYCAR <u>GGNSIDWGFSYYGLDV</u> WGQGTTVTVSS
56	9C8 kappa ADN VL ILT4.2K ADN VL	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAG TGGGGTCCCATCAAGGTTTCAAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCATTCACTTT CGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA

57	9C8.IgG1. 1 ADN VH ILT4.2.IgG 1.1 ADN VH	CAGGTGCAACTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTAAAGAAGCC TGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGATACA CCTTCACCAGCTCTGATATCAACTGGGTGCGACAGGCCACT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTAACAG TGGTCACACAGGCTATGCACAGAAGTTCCAGGACAGAGTCA CCTTGACCCGGGACACCTCCATAAGCACAGCCTACATGGAG CTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACTCGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGGTGGGAATAGCATTGACTGGGGGTTCTCCTACT ACGGTCTGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGT CTCCTCA
58	2H2.IgG1. 1 VH ILT4.3.IgG 1.1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVEVSCKASGGTFS <u>NYAIS</u> WVRQAPG QGLEWMG <u>GIIPILATANYAPKFQGR</u> VTITADEFTSSAYMELSSL RSEDTAVYYCAK <u>SSITMIRGAYLYYYDGM</u> DVWGQGTTVTVSS
59	2H2 kappa VL ILT4.3K VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYL</u> AWYQQKPGQ APRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY C <u>QQYGSSYT</u> FGQGTKLEIK
60	2H2.IgG1. 1 ADN VH ILT4.3.IgG 1.1 ADN VH	CAGGTCCAGTTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCC TGGGTCCTCGGTGGAGGTCTCCTGCAAGGCTTCTGGGGGCA CCTTCAGCAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAGGGATCATCCCCATCTT GGCTACAGCAAACCTACGCACCGAAGTTCCAGGGCAGAGTCA CGATTACCGCGGACGAATTCACGAGCTCAGCTTACATGGAG CTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAAGTCTAGTATTACTATGATTCGGGGAGCCTATCTTTA CTACTACGACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACG GTCACCGTCTCCTCA

61	2H2 kappa ADN VL ILT4.3K ADN VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCGTAC ACTTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
62	2E5 kappa VL ILT4.4K VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC <u>RASQSVSSYL</u> AWYQQKPGQA PRLLIY <u>DASNRAT</u> GIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYC <u>QQRSNWPPWT</u> FGQGTKVEIK
63	2E5.IgG1. 1 VH ILT4.4.IgG 1.1 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCTASGFTFS <u>NYGMH</u> WVRQAP GKGLEWVA <u>VIWYDGSNEYAESVKG</u> RLTISRDN SKNTLYLQVN SLRAEDTAVYYCAR <u>DPFYGSGNYFDY</u> WGQGTLVTVSS
64	2E5 kappa ADN VL ILT4.4K VL	GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGC CAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGC CACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGGA CAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATT TTGCAGTTTATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCGT GGACGTTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA

65	2E5.IgG1. 1 ADN VH ILT4.4.IgG 1.1 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGC CTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTACAGCGTCTGGATTC ACCTTCAGTAACTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGGCAGTTATCTGGTATGATG GAAGTAATGAATACTATGCAGAATCCGTGAAGGGCCGACTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA GTGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTATTG TGCGAGAGATCCTTTCTATGGTTCGGGGAATTACTTTGACTA CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
66	24E5 kappa VL ILT4.5K VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITC <u>RASQGISSWLA</u> WYQQKPEKA PKSLIY <u>AASSLQS</u> GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY C <u>QQYNSYPLT</u> FGGGTKVEIK
67	24E5.IgG1 .1 VH ILT4.5.IgG 1.1 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS <u>SYVMS</u> WVRQAPG KGLEWVS <u>GISGSGGSTYYADSVKGR</u> RFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAK <u>DQDIIAAYFVY</u> WGQGTLVTVSS
68	24E5 kappa ADN VL ILT4.5K VL	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGG TATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAA AGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAG TGGGGTCCCATCAAGGTTGAGCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTATTACTGCCAACAGTATAATAGTTACCCTCTCACTTT CGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

69	24E5.IgG1 .1 ADN VH ILT4.5.IgG 1.1 VH	GAGGTGCAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTC ACCTTTAGCAGCTATGTCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTG GTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTG TGCGAAAGATCAGGATATTATAGCAGCATACTACTTTGTCTA CTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCAACCGTCTCCTCA
70	21D9K kappa VL ILT4.6K VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSC <u>RASQSVSSSYLA</u> WYQQKPGQ APRLLIY <u>GASSRAT</u> GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY C <u>QQYGSSPLT</u> FGGGTKVEIK
71	21D9.IgG1 .1 VH ILT4.6.IgG 1.1 VH	EGQLLES GDLVQPGGSLRLSCATSGFTFS <u>NYAMN</u> WVRQAPG KGLEWIS <u>VISVSGGSTYYADSVKGR</u> RFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAK <u>DYYYDSGSYYDSFFDY</u> WGQGT LVT VSS
72	21D9K kappa ADN VL ILT4.6K ADN VL	GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCA GTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCTCACCT CTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

73	21D9.IgG1 .1 ADN VH ILT4.6.IgG 1.1 ADN VH	GAGGGACAGCTGTTGGAGTCTGGGGGAGACTTGGTACAGC CTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAACCTCTGGATTCT ACCTTTAGCAACTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCTCAGTTATTAGTGTTAGTG GTGGTAGCACATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA ATGAATAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTATATTACTG TGCGAAAGATTATTACTATGATTCGGGGAGTTATTATGACTCT TTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTC CTCA
74	21D9.b.Ig G1.3 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWISVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDYYYDSGSYYDSFFDYWGQGTLVTVSS
75	21D9.c.Ig G1.3 VH	EVQLLES GGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWISVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDYYYDSGSYYDSFFDYWGQGTLVTVSS
76	21D9.b.Ig G1.3 ADN VH	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCACCTCTGGCTTC ACATTTTCCA ACTATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACCT GGCAAGGGACTGGAGTGGATCTCTGTGATCTCTGTGAGCGG CGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACTGTATCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGT GCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTCC TTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAG CTCC

77	21D9.c.Ig G1.3 ADN VH	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGACCTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCGCCTCTGGCTT CACATTTTCCAACCTATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACC TGGCAAGGGACTGGAGTGGATCTCTGTGATCTCTGTGAGCG GCGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTG TGCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTC CTTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGA GCTCC
78	21D9.d.Ig G1.3 VH	EVQLLES GGDLVQPGGSLRLSCATSGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWVSVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKDYY YDSGSYYDSFFDYWGQGTLVTVSS
79	21D9.d.Ig G1.3 ADN VH	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGACCTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCACCTCTGGCTTC ACATTTTCCAACCTATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACCT GGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCTGTGATCTCTGTGAGCGG CGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTCA CCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCAGA TGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGT GCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTCC TTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGAG CTCC
80	21D9.e.Ig G1.3 VH ILT4.8.IgG 1.3 VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPG KGLEWVSVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCAKDYY YDSGSYYDSFFDYWGQGTLVTVSS

81	21D9.e.Ig G1.3 ADN VH ILT4.8.IgG 1.3 ADN VH	GAGGTGCAGCTGCTGGAGTCTGGAGGAGGACTGGTGCAGC CAGGAGGCAGCCTGAGGCTGTCCTGCGCCGCCTCTGGCTT CACATTTTCCAACATATGCCATGAATTGGGTGCGCCAGGCACC TGGCAAGGGACTGGAGTGGGTGTCTGTGATCTCTGTGAGCG GCGGCTCTACCTACTATGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC ACCATCAGCAGAGATAACTCCAAGAATACACTGTATCTGCAG ATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACAGCCGTGTACTATTG TGCCAAGGACTACTATTACGATTCCGGCTCTTATTACGACTC CTTCTTTGATTACTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACAGTGA GCTCC
82	21A5 kappa VL	EIA A LTQSPGTL S LSPGERATL S CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY C QQYGST FGGGTKVEIK
83	21A5.IgG1 .3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYL HWVRQAPG QGLEWMGIF HPSGDITSSAQNFQGR VTM I RTDSTSTVYMEISS LRSEDAVYYCARG GVLR YLD WSHAF DIWGQGTMTVTVSS
84	21A5 kappa ADN VL	GAAATTGCGTTGACGCAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCT CCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGA GTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAAACCT GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGATCCAGCAG GGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCAAGTGGCAGTGGGTCTG GGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAA GATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGTAGCACTTTC GGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

85	21A5.IgG1 .3 ADN VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGC CTGGGGCCTCAGTGAAGGTTTCCTGCAAGGCATCTGGATAC ACCTTCACCGACTACTATTTACACTGGGTGCGACAGGCCCT GGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGAATATTCCACCCTAGTGG TGATATCACAAGCAGCGCACAGAACTTCCAGGGCAGAGTCA CCATGATCAGGGACACGTCCACGAGCACCGTCTACATGGAA CTGAGCAGCCTGAGATCTGAAGACACGGCCGTGTATTACTG TGCGAGAGGGGGTGTATTACGATATCTTGACTGGTCCCATG CTTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTT CA
86	21A5.a kappa VL 21A5.1K ILT4.9K VL	EI V LTQSPGTL S LSPGERATL S CRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIY GASSRAT GIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQYGST FGGGTKVEIK
87	21A5.a.Ig G1.3 VH ILT4.9.IgG 1.3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT DYYL HWVRQAPG QGLEWMG IFHPSGDITSSAQNFQGRVTMT TRDTSTSTVYMEISS LRSEDAVYYCARG GVLR YLDW SHAFDI WGQGTMTVTVSS
88	21A5.a kappa ADN VL 21A5.1K ILT4.9K VL	GAGATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGGCACACTGTCTCTGAG CCCAGGAGAGAGGGCCACCCTGTCCTGCAGAGCCTCCCAG TCTGTGAGCTCCTCTTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCA GGACAGGCACCTAGGCTGCTGATCTACGGAGCCAGCTCCAG GGCAACCGGCATCCCTGACCGCTTCAGCGGCTCCGGCTCTG GCACAGACTTCACCCTGACAATCTCTAGGCTGGAGCCCGAG GACTTCGCCGTGTACTATTGTCAGCAGTATGGCTCCACCTTT GGCGGCGGCACAAAGGTGGAGATCAAG

89	21A5.a.Ig G1.3 ADN VH ILT4.9.IgG 1.3 VH	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCAGAGGTGAAGAAGC CAGGAGCCTCTGTGAAGGTGAGCTGCAAGGCCTCCGGCTAC ACCTTCACAGATTACTATCTGCACTGGGTGCGGCAGGCACC AGGACAGGGACTGGAGTGGATGGGCATCTTCCACCCTTCTG GCGACATCACAAGCTCCGCCCAGAACTTTCAGGGCCGGGTG ACCATGACAAGAGATAACCAGCACATCCACCGTGTACATGGA GCTGTCTAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGTACTATT GTGCAAGGGGAGGCGTGCTGAGGTATCTGGACTGGAGCCA CGCCTTTGATATCTGGGGCCAGGGCACAATGGTGACCGTGT CCTCT
90	10F10 kappa VL ILT4.10K VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGISSALAW EQQKPGKA PKLLIY DASSLES GVPSRFT I GSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC QQFN SYPI T FGQGTRLEIK
91	10F10.IgG 1.3 VH ILT4.10.Ig G1.3 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSS SYAM HWVRQAP GKGLEWVA IISYDEYNKY Y ADSVKGR FTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARE WVGIRY WGQGTLVTVSS
92	10F10 kappa ADN VL ILT4.10K VL	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCT GTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGG CATTAGCAGTGCTTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCAGGGAA AGCTCCTAAGCTCCTGATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAG TGGGGTCCCATCAAGGTTACCGGCAGTGGATCTGGGACAG ATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTTACCCGATCACCTT CGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAA

93	10F10.IgG 1.3 ADN VH ILT4.10.Ig G1.3 VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGC CTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATT ACCTTCAGTAGCTATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCC AGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAATTATATCATATGATG AATACAATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCA CCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA TGAACAGCCTGAGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGT GCGAGAGAGTGGGTGGGGATACGTTACTGGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCA
94	10F10.1 kappa VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKA PKLLIYDASSLESGVPSRFISGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC QQFNSYPITFGQGTRLEIK
95	10F10.1 kappa ADN VL	GCCATCCAGCTGACCCAGTCTCCTAGCTCCCTGTCTGCCAG CGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCCCAG GGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGATGCCTCCTCTCTGGA GAGCGGAGTGCCATCCAGGTTACCGGCTCCGGCTCTGGC ACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCAGAGGAT TTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACAGCTACCCCATC ACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCAAG
96	10F10.3 kappa VL ILT4.11K VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKA PKLLIYDASSLESGVPSRFISGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQFNSYPITFGQGTRLEIK

97	10F10.3 kappa ADN VL ILT4.11K ADN VL	GCCATCCAGCTGACCCAGTCTCCTAGCTCCCTGTCTGCCAG CGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCCCAG GGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTACCAGCAGAAGCCAGG CAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTATGATGCCTCCTCTCTGGA GAGCGGAGTGCCATCCAGGTTGAGCGGCTCCGGCTCTGGC ACAGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCAGAGGAT TTCGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACAGCTACCCCATC ACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCAAG
98	Región constante IgG1f humana	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

99	ADN de región constante IgG1f	GCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGT CTTCCTCTTCCCCC AAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTC CCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGC CACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAG CAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGT CCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACC ATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTA CACCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCC CCGGGTAAATGA
----	--	---

100	Región constante de cadena pesada IgG1.3 (o IgG1.3f) (L234A, L235E, G237A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
101	Ejemplo de región constante de cadena ligera	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
102	Región constante de cadena pesada IgG1f (alotipo f de tipo silvestre humano)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

103	Región constante de cadena pesada IgG1.1f (L234A, L235E, G237A, A330S, P331S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEAGAPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
104	Región constante de cadena pesada IgG1fa.P2 38K (o IgG1.P238 K)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

105	ADN de región constante de cadena pesada IgG1.3	GCGTCGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGC CTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTG GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCG GCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGT GGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACA TCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGC CCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGAAGGGGGCCCCGTCAG TCTTCCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCT CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACG GCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGA GCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGC AAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGT ACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAAC AACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC CTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTG GCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCC CCGGGTTGA
-----	--	--

106	Ejemplo de ADN de región constante de cadena ligera	CGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCT GATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTG CTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAG GTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCA GCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCC CGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG
107	Precursor de ILT4 humano, con péptido señal (UniProtKB Ref. Q8N423.4, 24-JUL-2013)	MTPIVTVLIC LGLSLGPRTH VQTGTIPKPT LWAEPDSVIT QGSPVTLSCQ GSLEAQEYRL YREKKSASWI TRIRPELVKN GQFHIPSITW EHTGRYGCQY YSRARWSELS DPLVLVMTGA YPKPTLSAQP SPVVTSGGRV TLQCESQVAF GGFILCKEKE EEHPQCLNSQ PHARGSSRAI FSVGPVSPNR RWSHRCYGYD LNSPYVWSSP SDLLELLVPG VSKKPSLSVQ PGPVVAPGES LTLQCVSDVG YDRFVLYKEG ERDLRQLPGR QPQAGLSQAN FTLGPVSRSY GGQYRCYGAH NLSSECSAPS DPLDILITGQ IRGTPFISVQ PGPTVASGEN VTLLCQSWRQ FHTFLLTKAG AADAPLRLRS IHEYPKYQAE FPMSPVTSAH AGTYRCYGSL NSDPYLLSHP SEPLELVVSG PSMGSSPPPT GPISTPAGPE DQPLTPTGSD PQSGLGRHLG VVIGILVAVV LLLLLLLLLF LILRHRRQGK HWTSTQRKAD FQHPAGAVGP EPTDRGLQWR SSPAADAQEE NLYAAVKDTQ PEDGVEMDTR AAASEAPQDV TYAQLHSLTL RRKATEPPPS QEREPPAEPS IYATLAIH

108	ILT4 maduro humano, sin péptido señal	QTGTIPKPTL WAEPDSVITQ GSPVTLSCQG SLEAQEYRLY REKKSASWIT RIRPELVKNG QFHIPSITWE HTGRYGCQYY SRARWSELSD PLVLVMTGAY PKPTLSAQPS PVVTSGGRVT LQCESQVAFG GFILCKEGEE EHPQCLNSQP HARGSSRAIF SVGPVSPNRR WSHRCYGYDL NSPYVWSSPS DLLELLVPGV SKKPSLSVQP GPVVAPGESL TLQCVSDVGY DRFVLYKEGE RDLRQLPGRQ PQAGLSQANF TLGPVSRSYG GQYRCYGAHN LSSECSAPSD PLDILITGQI RGTPFISVQP GPTVASGENV TLLCQSWRQF HTFLLTKAGA ADAPLRLRSI HEYPKYQAEF PMSPV TSAHA GTYRCYGSLN SDPYLLSHPS EPLELVVSGP SMGSSPPPTG PISTPAGPED QPLTPTGSDP QSGLGRLHGV VIGILVAVVL LLLLLLLLFL ILRHRRQGKH WTSTQRKADF QHPAGAVGPE PTDRGLQWRS SPAADAQEEN LYAAVKDTQP EDGVEMDTRA AASEAPQDVT YAQLHSLTLR RKATEPPPSQ EREPPAEPSI YATLAIH
109	Región ECD de ILT4 humano	GTIPKPTL WAEPDSVITQ GSPVTLSCQG SLEAQEYRLY REKKSASWIT RIRPELVKNG QFHIPSITWE HTGRYGCQYY SRARWSELSD PLVLVMTGAY PKPTLSAQPS PVVTSGGRVT LQCESQVAFG GFILCKEGEE EHPQCLNSQP HARGSSRAIF SVGPVSPNRR WSHRCYGYDL NSPYVWSSPS DLLELLVPGV SKKPSLSVQP GPVVAPGESL TLQCVSDVGY DRFVLYKEGE RDLRQLPGRQ PQAGLSQANF TLGPVSRSYG GQYRCYGAHN LSSECSAPSD PLDILITGQI RGTPFISVQP GPTVASGENV TLLCQSWRQF HTFLLTKAGA ADAPLRLRSI HEYPKYQAEF PMSPV TSAHA GTYRCYGSLN SDPYLLSHPS EPLELVVSGP SMGSSPPPTG PISTPAGPED QPLTPTGSDP QSGLGRLHGV

110	Precursor de ILT4 humano, con péptido señal, isoforma 2 (NCBI Ref. NP_001074447.1, 12-SEP-2013)	MTPIVTVLIC LGLSLGPRTH VQTGTIPKPT LWAEPDSVIT QGSPVTLSCQ GSLEAQEYRL YREKKSASWI TRIRPELVKN GQFHIPSITW EHTGRYGCQY YSRARWSELS DPLVLVMTGA YPKPTLSAQP SPVVTSGGRV TLQCESQVAF GGFILCKEGE EEHPQCLNSQ PHARGSSRAI FSVGPVSPNR RWSHRCYGYD LNSPYVWSSP SDLLELLVPG VSKKPSLSVQ PGPVVAPGES LTLQCVSDVG YDRFVLYKEG ERDLRQLPGR QPQAGLSQAN FTLGTVSRSY GGQYRCYGAH NLSSECSAPS DPLDILITGQ IRGTPFISVQ PGPTVASGEN VTLLCQSWRQ FHTFLLTKAG AADAPLRLRS IHEYPKYQAE FPMSPV TSAH AGTYRCYGSL NSDPYLLSHP SEPLELVVSG PSMGSSPPPT GPISTPGPED QPLTPTGSDP QSG LGRHLGV VIGILVAVVL LLLLLLLLFL ILRHRQGKH WTSTQRKADF QHPAGAVGPE PTDRGLQWRS SPAADAQEEN LYAAVKDTQP EDGVEMDTRA AASEAPQDVT YAQLHSLTLR RKATEPPPSQ EREPPAEPSI YATLAIH
111	ILT4 maduro humano, isoforma 2, sin péptido señal	QTGTIPKPTL WAEPDSVITQ GSPVTLSCQG SLEAQEYRLY REKKSASWIT RIRPELVKNG QFHIPSITWE HTGRYGCQYY SRARWSELSD PLVLVMTGAY PKPTLSAQPS PVVTSGGRVT LQCESQVAFG GFILCKEGEE EHPQCLNSQP HARGSSRAIF SVGPVSPNRR WSHRCYGYDL NSPYVWSSPS DLLELLVPGV SKKPSLSVQP GPVVAPGESL TLQCVSDVGY DRFVLYKEGE RDLRQLPGRQ PQAGLSQANF TLGTVSRSYG GQYRCYGAHN LSSECSAPSD PLDILITGQI RGTPFISVQP GPTVASGENV TLLCQSWRQF HTFLLTKAGA ADAPLRLRSI HEYPKYQAEF PMSPV TSAHA GTYRCYGSLN SDPYLLSHPS EPLELVVSGP SMGSSPPPTG PISTPGPEDQ PLTPTGSDPQ SGLGRHLGVV IGILVAVVLL LLLLLLLLFLI LRHRQGKHW TSTQRKADFQ HPAGAVGPEP TDRGLQWRSS PAADAQEENL YAAVKDTQPE DGVEMDTRAA ASEAPQDVTY AQLHSLTLRR KATEPPPSQE REPPAEPSIY ATLAIH

112	ILG4 humano isoforma 2, ECD	GTIPKPTL WAEPDSVITQ GSPVTLSCQG SLEAQEYRLY REKKSASWIT RIRPELVKNG QFHIPSITWE HTGRYGCQYY SRARWSELSD PLVLVMTGAY PKPTLSAQPS PVVTSGGRVT LQCESQVAFG GFILCKEGEE EHPQCLNSQP HARGSSRAIF SVGPVSPNRR WSHRCYGYDL NSPYVWSSPS DLLELLVPGV SKKPSLSVQP GPVVAPGESL TLQCVSDVGY DRFVLYKEGE RDLRQLPGRQ PQAGLSQANF TLGPVSRSYG GQYRCYGAHN LSSECSAPSD PLDILITGQI RGTPFISVQP GPTVASGENV TLLCQSWRQF HTFLLTKAGA ADAPLRLRSI HEYPKYQAEF PMSPV TSAHA GTYRCYGSLN SDPYLLSHPS EPLELVVSGP SMGSSPPPTG PISTPGPEDQ PLTPTGSDPQ SGLGRHLGV
113	21D9.IgG1 .3 HC	EGQLLESGGD LVQPGGSLRL SCATSGFTFS NYAMNWVRQA PGKGLEWISV ISVSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKDY YYDSGSYYDS FFDYWGQGTL VTVSSASTKG PSVFPLAPSS KSTSGGTAAL GCLVKDYFPE PVTVSWNSGA LTSGVHTFPA VLQSSGLYSL SSVVTVPSSS LGTQTYICNV NHKPSNTKVD KRVEPKSCDK THTCPPCPAPEAEGAPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEAL HNHYTQKSLS LSPG
114	10F10.4 VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQGISSALAW FQQKPGKA PKLLIY DASSLES GVPSRF S SGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYY CQQFN SYPIFGQGTRLEIK
115	10F10.4 ADN VL	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCTCCCTGTCTGCCAG CGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCCCAG GGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTTCCAGCAGAAGCCAGG

5		CAAGGCCCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGCCTCCTCTCTGG AGTCCGGCGTGCCCTCTAGGTTCTCCGGCTCTGGCAGCGGC ACCGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCAGAGGA TTTTGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACTCTTATCCCATC ACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCAAG
10	116 10F10.4 LC	AIQLTQSPSSLASVGDRVITICRASQGISSALAWFQQKPGKA PKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQFNSYPITFGQGTRLEIK RRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	117 10F10.4 ADN LC	GCCATCCAGCTGACCCAGAGCCCTAGCTCCCTGTCTGCCAG CGTGGGCGACAGGGTGACCATCACATGCAGAGCCTCCCAG GGAATCTCTAGCGCCCTGGCCTGGTTCCAGCAGAAGCCAGG CAAGGCCCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGCCTCCTCTCTGG AGTCCGGCGTGCCCTCTAGGTTCTCCGGCTCTGGCAGCGGC ACCGACTTTACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGCCAGAGGA TTTTGCCACATACTATTGTCAGCAGTTCAACTCTTATCCCATC ACCTTTGGCCAGGGCACACGGCTGGAGATCAAGCGTACGGT GGCCGCCCCGTCCGTGTTTATCTTCCCTCCATCGGACGAGC AGCTCAAGTCCGGTACCGCGAGCGTGGTCTGCCTGCTGAAC AATTTCTACCCGCGCGAAGCTAAAGTGCAATGGAAGGTCGAT AACGCACTTCAGTCCGGGAACAGCCAGGAATCTGTGACCGA GCAGGACTCCAAGGATTTCGACCTATTCCCTGTCCTCGACTCT CACCCTGTCAAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAAGGTCTACG CCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCTTGTCTCACCCGTGACT AAGAGCTTCAACCGGGGAGAGTGT
30	118 Dominio extracelula r de ILT4 Cyno	QAGILPKPMLWAEPDRVITQGSPVTLRCQGNLEARGYHLYRER KSASWITLIRPELVKKGQFPIPSITWEDAGRYRCQYYSHSWWS EHSDPLELVVTGAYRKPTLSALPSPVVASGGNVTLQCDSRVAL DGFILCKEGEDEHSQRLNSQPRTRGSSRAVFSVGPVSPSRRW

	9152, incluyendo la marca His-Avi	SYRCYGYELHSRYVWSLPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVV AGGDKLTLQCGSDAGYDRFALYKEGERDFLQRPQGQLQAGLA QANFTLDPVRGSHGGQYRCYGAHNLSSEWSAPSDPLDILISAG PHSGLRRECDPAVSVTGMDGHFLSDQGGSSSPGGGSGGGSE QKLISEEDLGHHHHHHGLNDIFEAQKIEWHE
119	Dominio extracelular de hILT4H más marca HIS-Avi (usada en el Ejemplo 2)	QTGTIPKPTLWAEPDSVITQGSPVTLSCQGSLEAQEYRLYREKK SASWITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQYYSRARWSE LSDPLVLVMTGAYPKPTLSAQSPPVVTSGGRVTLQCESQVAFG GFILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIFSVGPVSPNRRWSH RCYGYDLNSPYVWSSPSDLLELLVPGVSKKPSLSVQPGPVVAP GESLTLQCVSDVGYDRFVLYKEGERDLRQLPGRQPQAGLSQA NFTLGPVSRSYGGQYRCYGAHNLSSESSAPSDPLDILITGQIRG TPFISVQPGPTVASGENVTLLCQSWRQFHTFLLTKAGAADAPL RLRSIHEYPKYQAEFPMSPVTSAHAGTYRCYGSLNSDPYLLSH PSEPLELVVSGPSMGSSPPPTGPISTPAGPEDQPLTPTGSDPQ SGLGRHLGSPGGGSGGGSEQKLISEEDLGHHHHHHGLNDIFE AQKIEWHE
120	Residuos 70-77 de hILT4	ITRIRPEL
121	Residuos 78-100 de hILT4	VKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY
122	Residuos 70-100 de hILT4	ITRIRPELVKNGQFHIPSITWEHTGRYGCQY
123	Residuos 154 a 181 de hILT4	ILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF
124	Residuos	SSPPPTGPIS

	425 a 434 de hILT4	
125	9G4 (ILT4.1) CDR1 VH	SYYWN
126	9G4 CDR2 VH	YIYYSGSTKYNPSLKS
127	9G4 CDR3 VH	SGWYYFDY
128	9G4 CDR1 VL	RASQSVSSYLA
129	9G4 CDR2 VL	DASNRAT
130	9G4 CDR3 VL	QQRSYWPWT
131	9C8 CDR1 VH	SSDIN
132	9C8 CDR2 VH	WMNPNSGHTGYAQKFQD
133	9C8 CDR3 VH	GGNSIDWGFSYYGLDV
134	9C8 CDR1 VL	RASQGISSALA
135	9C8 CDR2 VL	DASSLES
136	9C8 CDR3 VL	QQFNSYPFT
137	2H2 CDR1 VH	NYAIS
138	2H2 CDR2	GIIPILATANYAPKFQG

	VH	
139	2H2 CDR3 VH	SSITMIRGAYLYYYDGMDV
140	2H2 CDR1 VL	RASQSVSSSYLA
141	2H2 CDR2 VL	GASSRAT
142	2H2 CDR3 VL	QQYGSSYT
143	2E5 CDR1 VH	NYGMH
144	2E5 CDR2 VH	VIWYDGSNEYYAESVKG
145	2E5 CDR3 VH	DPFYGSGNYFDY
146	2E5 CDR1 VL	RASQSVSSSYLA
147	2E5 CDR2 VL	DASNRAT
148	2E5 CDR3 VL	QQRSNWPPWT
149	24E5 CDR1 VH	SYVMS
150	24E5 CDR2 VH	GISGSGGSTYYADSVKG
151	24E5 CDR3 VH	DQDIIAAYYFVY
152	24E5 CDR1 VL	RASQGISSWLA
153	24E5	AASSLQS

	CDR2 VL	
154	24E5 CDR3 VL	QQYNSYPLT
155	21D9 CDR1 VH	NYAMN
156	21D9 CDR2 VH	VISVSGGSTYYADSVKG
157	21D9 CDR3 VH	DYYYDSGSYYDSFFDY
158	21D9 CDR1 VL	RASQSVSSSYLA
159	21D9 CDR2 VL	GASSRAT
160	21D9 CDR3 VL	QQYGSSPLT
161	21A5 CDR1 VH	DYYLH
162	21A5 CDR2 VH	IFHPSGDITSSAQNFQG
163	21A5 CDR3 VH	GGVLRYLWDWSHAFDI
164	21A5 CDR1 VL	RASQSVSSSYLA
165	21A5 CDR2 VL	GASSRAT
166	21A5 CDR3 VL	QQYGST
167	10F10 CDR1 VH	SYAMH
168	10F10	IISYDEYNKYYYADSVKG

	CDR2 VH	
169	10F10 CDR3 VH	EWVGIRY
170	10F10 CDR1 VL	RASQGISSALA
171	10F10 CDR2 VL	DASSLES
172	10F10 CDR3 VL	QQFNSYPIT
173	Residuos 127-142 de hILT4	SAQPSPVVTSGGRVTL
174	Residuos 182-213 de hILT4	SVGPVSPNRRWSHRCYGYDLNSPYVWSSPSDL
175	Residuos 378-392 de hILT4	QAEFPMSPV TSAHAG
176	21D9.e.lg G1f (Mismo Fc que la SEQ ID NO: 98 con/sin K de extremo C)	<u>EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAP</u> <u>GKGLEWVSVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN</u> <u>SLRAEDTAVYYCAKDY YD S GSY YDSFFDYWGQGTLVTVSSA</u> STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
177	21D9.e.lg	<u>EVQLLES G GGLVQP G GSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAP</u>

5	G1.1f (Fc es el mismo que la SEQ ID NO: 103)	<u>GKGLEWVSVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN</u> <u>SLRAEDTAVYYCAKDY YYDSGSYYDSFFDYWGQGTLVTVSSA</u> STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPK DTLNISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15 20	178 21D9.e.lg G4_S228P	<u>EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAP</u> <u>GKGLEWVSVISVSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN</u> <u>SLRAEDTAVYYCAKDY YYDSGSYYDSFFDYWGQGTLVTVSSA</u> STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHK PSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
25 30	179 hlgG4 S228P (Fc de SEQ ID NO: 178)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV D HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS