

P-1206
Rta. a Oficio No. 13809
Noviembre 24 de 2021

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a B7-H4 humana, caracterizado porque comprende secuencias de la región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de región variable de cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) seleccionadas del grupo que consiste en:
 - (a) SEQ ID NO:458-463, respectivamente; y
 - (b) SEQ ID NO:35-40, respectivamente.
2. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 41 o .
3. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42.
4. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de las:
 - (a) SEQ ID NO: 464 y 42, respectivamente; o
 - (b) SEQ ID NO: 41 y 42, respectivamente.
5. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende además una región constante de cadena pesada.

6. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque la región constante de cadena pesada se selecciona del grupo que consiste en regiones constantes de cadena pesada de inmunoglobulinas IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ humanas.
7. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende además una región constante de cadena ligera.
8. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque la región constante de cadena ligera se selecciona del grupo que consiste en regiones constantes de cadena ligera de inmunoglobulinas IgGκ e IgGλ humanas.
9. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno comprende además una región constante de cadena pesada y una región constante de cadena ligera, en donde la región constante de cadena pesada es una región constante de cadena pesada de IgG₁ humana, y en donde la región constante de cadena ligera es una región constante de cadena ligera de IgGκ humana.
10. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 43 o 469.
11. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o 10, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44.

12. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una cadena pesada y cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de las:

(a) SEQ ID NO:469 y 44, respectivamente; o

(b) SEQ ID NO:43 y 44, respectivamente.

13. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende las secuencias de la región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de región variable de cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de las SEQ ID NO: 458-463, respectivamente.

14. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizado porque (i) el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:464 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 o (ii) el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:469 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

15. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque comprende las secuencias de la región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de región variable de cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de las SEQ ID NO:35-40, respectivamente.

16. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizado porque (i) el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41 y una región variable de cadena ligera que

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 o (ii) el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

17. Un anticuerpo aislado o un fragmento de unión al antígeno del mismo caracterizado porque se une al mismo epítipo de B7-H4 humana como el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-16.

18. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-17, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo humano o fragmento de unión al antígeno del mismo.

19. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 13-15, o 17, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo murino, humanizado o quimérico o fragmento de unión al antígeno del mismo.

20. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-19, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la proliferación de linfocitos T.

21. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 20, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno aumenta la proliferación de linfocitos T en al menos 21 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

22. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 20, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno aumenta la proliferación de linfocitos T de entre alrededor de 5 % a alrededor de 35 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

23. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-22, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la proliferación de linfocitos T CD4+.

24. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 23, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo aumenta la proliferación de linfocitos T CD4+ en al menos 9 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

25. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 23, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo aumenta la proliferación de linfocitos T CD4+ de entre alrededor de 5 % a alrededor de 15 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

26. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-25, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la proliferación de linfocitos T CD8+.

27. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 26, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo aumenta la proliferación de linfocitos T CD8+ en al menos 11 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

28. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 27, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo aumenta la proliferación de linfocitos T CD8+ de entre alrededor de 5 % a alrededor de 15 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

29. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-28, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la producción de interferón gamma (IFN γ).

30. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 29, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es capaz de aumentar la producción de IFN γ al menos 2 veces, al menos 3 veces, al menos 4 veces, al menos 5 veces, al menos 6 veces, al menos 7 veces, al menos 8 veces, entre al menos 2 veces y al menos 10 veces, o entre al menos 3 veces y al menos 10 veces.

31. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-30, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es capaz de inducir citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés) en una célula que expresa B7-H4.

32. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 31, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo induce lisis específica en al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, entre alrededor de 20 % y alrededor de 50 %, o entre alrededor de 30 % y alrededor de 50 % de células que expresan B7-H4.

33. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-32, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo inhibe el crecimiento tumoral en un modelo de carcinoma colorrectal CT26, un modelo 4T1 de carcinoma de mama murino o un modelo B16-moB7-H4/H3 de línea celular de melanoma.

34. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 33, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo reduce el crecimiento tumoral en al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 45 % o al menos 50 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

35. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 20-34, donde la inducción de la proliferación de linfocitos T, la inducción de la proliferación de linfocitos T CD4+, la inducción de la proliferación de linfocitos T CD8+, la inducción de la producción de IFN γ , la actividad de ADCC y/o la inhibición del crecimiento tumoral depende de la dosis.

36. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a este se une a B7-H4 de mono cynomolgus.

37. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-36, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a B7-H4 de rata.

38. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-37, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a B7-H4 de ratón.

39. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-38, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une al dominio de IgV de B7-H4 humana.

40. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-39, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo se encuentra afucosilado.

41. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-40, el cual es un anticuerpo de longitud completa.

42. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-40, el cual es un fragmento de unión al antígeno.

43. El fragmento de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 42, caracterizado porque dicho fragmento de unión al antígeno comprende un Fab, Fab', F(ab')₂, Fv de cadena simple (scFv), Fv unido por disulfuro, dominio V-NAR, IgNar, intracuerpo, IgGΔCH2, minicuerpo, F(ab')₃, tetracuerpo, triacuerpo, diacuerpo, anticuerpo de dominio simple, DVD-Ig, Fcab, mAb², (scFv)₂ o scFv-Fc.

44. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-43 caracterizado porque comprende además una etiqueta detectable.

45. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo está conjugado con una toxina.

46. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 45, caracterizado porque la toxina es citostática o citotóxica.

47. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 45 o la reivindicación 46, caracterizado porque la toxina es citotóxica.

48. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada o la cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47.

49. El polinucleótido aislado de la reivindicación 48, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico codifica la VH de la SEQ ID NO: 41 o 464.

50. El polinucleótido aislado de la reivindicación 48, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 243 o 470.

51. El polinucleótido aislado de la reivindicación 48, caracterizado porque la molécula

de ácido nucleico comprende (i) la secuencia de la SEQ ID NO: 243 o 470 y (ii) la secuencia de la SEQ ID NO:408.

52. Un polinucleótido aislado caracterizado porque comprende una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena ligera o la cadena ligera de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47.

53. El polinucleótido aislado de la reivindicación 52, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico codifica la VL de la SEQ ID NO: 42 o la cadena ligera de la SEQ ID NO: 44.

54. El polinucleótido aislado de la reivindicación 52, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 244.

55. El polinucleótido aislado de la reivindicación 52, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico comprende (i) la secuencia de la SEQ ID NO: 244 y (ii) la secuencia de la SEQ ID NO:406.

56. El polinucleótido aislado de acuerdo con la reivindicación 52, caracterizado porque el polinucleótido comprende además una molécula de ácido nucleico que codifica la región variable de cadena pesada o la cadena pesada de un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47.

57. Un vector aislado que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 48-56.

58. Una célula hospedadora que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 48-56, el vector de la reivindicación 57 o un primer vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 48-51 y un segundo vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 52-55.

59. La célula hospedadora de la reivindicación 58, caracterizado porque se selecciona del grupo que consiste en una célula de *E. coli*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces*, levadura, CHO, YB/20, NS0, PER-C6, HEK-293T, NIH-3T3, HeLa, BHK, Hep G2, SP2/0, R1.1, B-W, L-M, COS 1, COS 7, BSC1, BSC40, BMT10, célula vegetal, célula de insecto y una célula humana en cultivo de tejido.

60. La célula hospedadora de la reivindicación 58 o 59, caracterizado porque la célula hospedadora carece de un gen de alfa-1,6-fucosiltransferasa (FUT8) funcional.

61. Un método para producir un anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une a B7-H4 humana caracterizado porque comprende cultivar una célula hospedadora de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 58-60 de manera que se exprese una molécula de ácido nucleico y se produzca el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

62. Un anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo que se une específicamente a B7-H4 humana y se codifique mediante el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 48-56.

63. Una composición farmacéuticamente aceptable caracterizado porque comprende el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47 o 62 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

64. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 63, caracterizado porque al menos 95 % de los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos en la composición están afucosilados.

65. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 63 o la reivindicación 64, caracterizado porque los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente a B7-H4 humana y comprenden secuencias de región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de región variable de cadena pesada

(VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de las SEQ ID NO:458-460.

66. La composición farmacéutica de la reivindicación 65, caracterizado porque (i) el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:464 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 o (ii) el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:469 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

67. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 63 o 64, caracterizado porque los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos que se unen específicamente a B7-H4 humana comprenden secuencias de región determinante de la complementariedad (CDR) 1 de región variable de cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de región variable de cadena ligera (VL) de las SEQ ID NO:35-40.

68. La composición farmacéutica de la reivindicación 67, caracterizado porque (i) el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42 o (ii) el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

69. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 63-68, caracterizado porque la fucosilación es indetectable en la composición.

70. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 63-69, caracterizado porque comprende además un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

71. La composición farmacéutica de la reivindicación 70, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo es nivolumab o pembrolizumab.

72. La composición farmacéutica de la reivindicación 70, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo es AMP-514, camrelizumab, tislelizumab y spartalizumab.

73. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 63-69, caracterizado porque comprende además un anticuerpo anti-PD-L1 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

74. Un método *in vitro* para detectar B7-H4 en una muestra caracterizado porque comprende poner en contacto dicha muestra con el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47 o 62.

75. El método de acuerdo con la reivindicación 74, caracterizado porque la muestra se obtiene a partir de un cáncer en un sujeto humano.

76. Un kit caracterizado porque comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47 o 62 o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 63-73 y a) un reactivo de detección, b) un antígeno de B7-H4, o c) una combinación de estos.

77. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-47 o 62, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo inhibe la actividad de bloqueo de punto de control de linfocitos T de B7-H4.

78. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 77, caracterizado porque la actividad de bloqueo de punto de control de

linfocitos T se mide mediante un aumento en la producción de IL-2 en relación con células de control.

79. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 63, caracterizado porque los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos inhiben la actividad de bloqueo de punto de control de linfocitos T de B7-H4.

80. La composición farmacéutica de la reivindicación 79, caracterizado porque la actividad de bloqueo de punto de control de linfocitos T se mide mediante un aumento en la producción de IL-2 en relación con células de control.