

P-1206
Rta. a Oficio No. 21
Marzo 31 de 2022

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 la región variable de cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de la 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 464.
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 la cadena pesada y una región variable de la 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 la 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 la cadena pesada se selecciona del grupo que consiste en las regiones constantes de la cadena pesada de las 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 la 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 la cadena ligera se selecciona del grupo que consiste en regiones constantes de la cadena ligera de las 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 la cadena pesada y una región constante de la cadena ligera, en donde la región constante de la cadena pesada es una región constante de la cadena pesada de IgG₁ humana, y en donde la región constante de la cadena ligera es una región constante de la 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 la región variable de la cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de la región variable de la 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 la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:464 y una región variable de la 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 la cadena pesada (VH), CDR2 VH, CDR3 VH y CDR1, CDR2 y CDR3 de región variable de la 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 la cadena pesada que comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41 y una región variable de la 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. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-16, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo es un anticuerpo humano o fragmento de unión al antígeno del mismo.

18. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 13-15, 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.

19. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-18, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la proliferación de linfocitos T.

20. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 19, 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.

21. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 19, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno aumenta la proliferación de linfocitos T den un 5 % a un 35 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

22. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-21, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento

de unión al antígeno del mismo induce la proliferación de linfocitos T CD4+.

23. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 22, 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.

24. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 22, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo aumenta la proliferación de linfocitos T CD4+ den un 5 % a un 15 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

25. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-24, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la proliferación de linfocitos T CD8+.

26. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 25, 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.

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+ den un 5 % a un 15 % en comparación con el tratamiento con un anticuerpo de control.

28. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo induce la producción de interferón gamma (IFN γ).

29. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 28, 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 2 veces a 10 veces, o entre 3 veces as 10 veces.

30. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-29, 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.

31. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 30, 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 un 20 % a un 50 %, o entre un 30 % a un 50 % de células que expresan B7-H4.

32. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-31, 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.

33. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 32, 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.

34. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-33, en el que el anticuerpo o fragmento de unión a este se une a B7-H4 de mono cynomolgus.

35. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con

cualquiera de las reivindicaciones 1-34, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a B7-H4 de rata.

36. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-35, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo se une a B7-H4 de ratón.

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 al dominio de IgV de B7-H4 humana.

38. El anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-38, caracterizado porque el anticuerpo o el fragmento de unión al antígeno del mismo se encuentra afucosilado.

39. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-39, el cual es un anticuerpo de longitud completa.

40. El anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-38, el cual es un fragmento de unión al antígeno.

41. El fragmento de unión al antígeno de acuerdo con la reivindicación 40, 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.

42. 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.

43. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con

cualquiera de las reivindicaciones 1 a 41, caracterizado porque el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo está conjugado con una toxina.

44. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 43, caracterizado porque la toxina es citostática o citotóxica.

45. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 43 o la reivindicación 44, caracterizado porque la toxina es citotóxica.

46. 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 1-45.

47. El polinucleótido aislado de la reivindicación 46, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico codifica la VH de la SEQ ID NO: 41 o 464.

48. El polinucleótido aislado de la reivindicación 46, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 243 o 470.

49. El polinucleótido aislado de la reivindicación 46, 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.

50. 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 1-45.

51. El polinucleótido aislado de la reivindicación 50, 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.

52. El polinucleótido aislado de la reivindicación 50, caracterizado porque la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 244.
53. El polinucleótido aislado de la reivindicación 50, 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.
54. El polinucleótido aislado de acuerdo con la reivindicación 50, 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 1-45.
55. Un vector aislado que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46-54.
56. Una célula hospedadora que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46-54, el vector de la reivindicación 55 o un primer vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 46-49 y un segundo vector que comprende el polinucleótido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 50-53.
57. La célula hospedadora de la reivindicación 56, 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.
58. La célula hospedadora de la reivindicación 56 o 57, caracterizado porque la célula hospedadora carece de un gen de alfa-1,6-fucosiltransferasa funcional.
59. 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 56-58 de manera que se exprese una molécula de ácido nucleico y se produzca el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo.

60. 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 46-54.

61. 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 1-45 o 60 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

62. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61, caracterizado porque al menos 95 % de los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno de los mismos en la composición están afucosilados.

63. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61 o la reivindicación 62, 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:458-463.

64. La composición farmacéutica de la reivindicación 63, 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.

65. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61 o 62, 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.

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: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.

67. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 61-66, caracterizado porque la fucosilación es indetectable en la composición.

68. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 61-67, caracterizado porque comprende además un anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo.

69. La composición farmacéutica de la reivindicación 68, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo es nivolumab o pembrolizumab.

70. La composición farmacéutica de la reivindicación 68, caracterizado porque el anticuerpo anti-PD-1 o fragmento de unión al antígeno del mismo es AMP-514, camrelizumab, tislelizumab y spartalizumab.

71. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 61-67, caracterizado porque comprende además un anticuerpo anti-PD-L1 o fragmento de

unión al antígeno del mismo.

72. 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 1-45 o 60.

73. El método de acuerdo con la reivindicación 72, caracterizado porque la muestra se obtiene a partir de un cáncer en un sujeto humano.

74. Un kit caracterizado porque comprende el anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-45 o 60 o la composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 61-71 y a) un reactivo de detección, b) un antígeno de B7-H4, o c) una combinación de estos.

75. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-45 o 60, 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.

76. El anticuerpo aislado o fragmento de unión al antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 75, 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.

77. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 61, 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.

78. La composición farmacéutica de 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.