

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, donde la región variable de cadena pesada comprende: un HVR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 ; un HVR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; un HVR-H3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 22, 23 y 24; y la región variable de cadena ligera comprende: un HVR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; un HVR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; y un HVR-L3 que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 y 19.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que la región variable de la cadena pesada comprende una, dos, tres o cuatro regiones de marco seleccionadas de VH FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, VH FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, VH FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 y VH FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; o en el que la región variable de cadena ligera comprende una, dos, tres o cuatro regiones de marco seleccionadas de VL FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, VL FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, VL FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, y VL FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32.
3. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que la región variable de la cadena pesada comprende una, dos, tres o cuatro regiones de marco seleccionadas de VH FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25, VH FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, VH FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 y VH FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; y en el que la región variable de la cadena ligera comprende una, dos, tres o cuatro regiones de marco seleccionadas de VL FR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, VL FR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30, VL FR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31, y VL FR4 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32.
4. El anticuerpo de la reivindicación 1 o 2, en el que la región variable de la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% o al menos 95% o al menos 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 33, 34 y 35; y / o en el que la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% o al menos 95% o al menos 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44.

5. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, en el que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en el que la región variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 33, 34 y 35 ; o en el que la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44.

6. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, en el que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, en el que la región variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 33, 34 y 35 y en el que la región variable de la cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44.

7. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, donde la región variable de cadena pesada comprende HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 del anticuerpo 3F9. - 1, 3F9-2, 3F9-3, 3F9-4, 3F9-5, 3F9-6, 3F9-7, 3F9-8, 3F9-9, 3F9-10, 3F9-11, 3F9-12, 3F9-13, 3F9-14, 3F9-15, 3F9-16, 3F9-17, 3F9-18, 3F9-19, 3F9-20, 3F9-21, 3F9-22, 3F9-23, 3F9-24 o 3F9-25 (como se muestra en la Tabla 8); o en el que la región variable de la cadena ligera comprende HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 del anticuerpo 3F9-1, 3F9-2, 3F9-3, 3F9-4, 3F9-5, 3F9-6, 3F9-7, 3F9-8, 3F9-9, 3F9-10, 3F9-11, 3F9-12, 3F9-13, 3F9-14, 3F9-15, 3F9-16, 3F9-17, 3F9-18, 3F9-19, 3F9 -20, 3F9-21, 3F9-22, 3F9-23, 3F9-24 o 3F9-25 (como se muestra en la Tabla 7).

8. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera, donde la región variable de cadena pesada comprende HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 del anticuerpo 3F9. - 1, 3F9-2, 3F9-3, 3F9-4, 3F9-5, 3F9-6, 3F9-7, 3F9-8, 3F9-9, 3F9-10, 3F9-11, 3F9-12, 3F9-13, 3F9-14, 3F9-15, 3F9-16, 3F9-17, 3F9-18, 3F9-19, 3F9-20, 3F9-21, 3F9-22, 3F9-23, 3F9-24 o 3F9-25 (como se muestra en la Tabla 8); y donde la región variable de cadena ligera comprende HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 del anticuerpo 3F9-1, 3F9-2, 3F9-3, 3F9-4, 3F9-5, 3F9-6, 3F9-7, 3F9-8, 3F9-9, 3F9-10, 3F9-11, 3F9-12, 3F9-13, 3F9-14, 3F9-15, 3F9-16, 3F9-17, 3F9-18, 3F9-19, 3F9 -20, 3F9-21, 3F9-22, 3F9-23, 3F9-24 o 3F9-25 (como se muestra en la Tabla 7).

9. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, en el que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende un HVR-H1, HVR-H2 y HVR-H3 y una región variable de cadena ligera que comprende un HVR-L1, HVR-L2, y HVR-L3, donde el anticuerpo comprende HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2 y HVR-L3 del anticuerpo 3F9-1, 3F9-2, 3F9-3, 3F9- 4, 3F9-5, 3F9-6, 3F9-7, 3F9-8, 3F9-9, 3F9-10, 3F9-11, 3F9-12, 3F9-13, 3F9-14, 3F9-15, 3F9-16, 3F9-17, 3F9-18, 3F9-19, 3F9-20, 3F9-21, 3F9-22, 3F9-23, 3F9-24 o 3F9-25 (como se muestra en las Tablas 7 y 8).

10. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la región variable de la cadena pesada comprende una, dos, tres o cuatro regiones marco seleccionadas entre VH FR1, VH FR2, VH, FR3 y VH FR4, en el que: VH FR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25; VH FR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26; VH FR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27; y VH FR4 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28; y / o la región variable de cadena ligera comprende una, dos, tres o cuatro regiones marco seleccionadas VL FR1, VL FR2, VL FR3 y VL FR4, en donde VL FR1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29; VL FR2 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30; VL FR3 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31; y VL FR4 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32.
11. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
12. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.
13. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en el que el anticuerpo es un fragmento Fab, Fab', Fab'-SH, F (ab')₂, Fv o scFv.
14. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que el anticuerpo es un anticuerpo multivalente.
15. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en el que el anticuerpo es de la clase IgG, la clase IgM o la clase IgA.
16. El anticuerpo según la reivindicación 15, en el que el anticuerpo es de la clase IgG y tiene un isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.
17. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en el que el anticuerpo se une a un receptor inhibidor de Fc.
18. El anticuerpo según la reivindicación 17, en el que el receptor inhibidor de Fc es el receptor inhibidor de Fc-gamma IIB (FcγRIIB).
19. El anticuerpo según la reivindicación 18, en el que el anticuerpo reduce los niveles celulares de FcγRIIB.
20. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en el que el anticuerpo anti-SIRPA tiene un isotipo IgG1 humano o de ratón y comprende una o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc en un residuo de aminoácido seleccionado del grupo que consiste en: N297A, D265A, D270A, L234A, L235A, G237A, P238D, L328E, E233D, G237D, H268D, P271G, A330R, C226S, C229S, E233P, L234V, L234F, L235E, S264T, A32T256E, N297Q, P238S, P238A, A327Q, A327G, P329A, K322A, T394D y cualquier combinación de los mismos, en donde la numeración de los residuos es según la numeración EU, o comprende una delección de aminoácido en la región Fc en una posición correspondiente a glicina 236.

21. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en el que el anticuerpo comprende una o más sustituciones de aminoácidos en la región Fc en una posición de residuo seleccionada del grupo que consiste en: C127S, L234A, L234F, L235A, L235E, S267E, K322A, L328F, A330S, P331S, E345R, E430G, S440Y y cualquier combinación de los mismos, en donde la numeración de los residuos de aminoácidos es de acuerdo con la numeración de EU o Kabat.

22. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, en el que el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en el que la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

23. Un anticuerpo aislado que se une a SIRPA humano, donde el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde:

a. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

b. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

c. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

d. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 54 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

e. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

f. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

g. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50;

h. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50; o

i. la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 y la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

24. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en el que el anticuerpo anti-SIRPA disminuye los niveles de superficie celular de SIRPA, disminuye los niveles intracelulares de SIRPA, disminuye los niveles celulares totales de SIRPA o cualquier combinación de los mismos.

25. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-24, en el que el anticuerpo anti-SIRPA induce la degradación de SIRPA, induce la escisión de SIRPA, induce la internalización de SIRPA, induce el desprendimiento de SIRPA, regula negativamente la expresión de SIRPA o cualquier combinación de los mismos.
26. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-25, en el que el anticuerpo reduce los niveles de SIRPA en la superficie celular *in vitro*.
27. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-26, en el que el anticuerpo reduce los niveles de SIRPA en la superficie celular *in vivo*.
28. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en el que el anticuerpo regula negativamente la expresión de SIRPA en monocitos humanos.
29. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-28, en el que el anticuerpo regula negativamente la expresión de SIRPA en macrófagos humanos.
30. El anticuerpo según la reivindicación 29, en el que el anticuerpo regula negativamente la expresión de SIRPA en macrófagos humanos en aproximadamente un 70-95%.
31. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en el que el anticuerpo tiene una afinidad (KD) por SIRPA v1 humano de menos de 6 nM, menos de 5 nM, menos de 4 nM, menos de 3 nM, menos de 2 nM o menos de 1 nM.
32. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-31, en el que el anticuerpo tiene una afinidad (KD) por SIRPA v1 humano de aproximadamente 0,1 nM a 2 nM.
33. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en el que el anticuerpo tiene una afinidad por SIRPA v1 humano con una KD que es 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, al menos 9 veces o al menos 10 veces menor que la afinidad por SIRPA humano de un anticuerpo anti-SIRPA que comprende una variable de cadena pesada región que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5.
34. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-33, en el que el anticuerpo reduce los niveles de superficie celular de SIRPA v1 *in vitro* con una concentración media máxima eficaz (CE50) de aproximadamente 0,05 nM a 2 nM medida por citometría de flujo.
35. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-34, en el que el anticuerpo reduce los niveles de superficie celular de SIRPA *in vitro* con una concentración media máxima eficaz (CE50) de aproximadamente 0,05 a 0,20 nM para SIRPA v1 humano, de aproximadamente 0,05 a 0,10 nM. para SIRPA v2 humano, y / o de aproximadamente 0,05 a 1 nM para cyno SIRPA medido por citometría de flujo.
36. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35, en el que el anticuerpo se une a SIRPA humano, SIRPA v1 humano, SIRPA v2 humano, cyno SIRPA, SIRPA tití y SIRPβ3 humano.

37. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-36, en el que el anticuerpo se une al dominio D3 de SIRPA v1 humano de SEQ ID NO: 1.

38. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-37, en el que el anticuerpo se une a los residuos de aminoácidos R282, Q284 y G337 de SIRPA v1 humano de SEQ ID NO: 1.

39. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 38, en el que el anticuerpo anti-SIRPA aumenta la fagocitosis de células tumorales en macrófagos, aumenta la fagocitosis de células tumorales en macrófagos M1, aumenta la fagocitosis de células tumorales en macrófagos M2, regula negativamente la expresión de CD14 en macrófagos, y / o cualquier combinación de los mismos.

40. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-39, en el que el anticuerpo anti-SIRPA potencia la proliferación de células T.

41. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 40, en el que el anticuerpo anti-SIRPA potencia la proliferación de células T sin bloquear la interacción de SIRPα y CD47.

42. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-41, en el que el anticuerpo anti-SIRPA estimula la producción de ROS en monocitos y / o aumenta la expresión de IL-8 en monocitos.

43. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-42, en el que el anticuerpo anti-SIRPA inhibe el crecimiento tumoral in vivo.

44. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-43, en el que el anticuerpo anti-SIRPA reduce el número de células mieloides CD14 + en sangre periférica y / o aumenta el número de células mieloides CD14 + en un tumor.

45. El anticuerpo según cualquiera de las reivindicaciones 1-44, en el que el anticuerpo se une a SIRPA humano pero no bloquea sustancialmente la unión de CD47 a SIRPA.

46. El anticuerpo anti-SIRPA según cualquiera de las reivindicaciones 1-45, en el que el anticuerpo reconoce un primer y un segundo antígeno, en el que el primer antígeno es SIRPA y el segundo antígeno es:

(a) un antígeno que facilita el transporte a través de la barrera hematoencefálica;

(b) un antígeno que facilita el transporte a través de la barrera hematoencefálica seleccionado entre receptor de transferrina (TR), receptor de insulina (HIR), receptor del factor de crecimiento similar a la insulina (IGFR), proteínas 1 y 2 relacionadas con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LPR) -1 y 2) y receptor de toxina diftérica;

(c) un agente causante de enfermedad seleccionado de péptidos o proteínas causantes de enfermedad, ácidos nucleicos causantes de enfermedad, donde los ácidos nucleicos causantes de enfermedad son ARN antisentido de expansión repetida GGCCCC (G2C4), las proteínas causantes de enfermedad se seleccionan de amiloide beta, beta amiloide oligomérico, placas beta amiloide, proteína precursora de amiloide o fragmentos de la misma, Tau, IAPP, alfa-

sinucleína, TDP-43, proteína FUS, C9orf72 (marco de lectura abierto del cromosoma 9 72), proteína c9RAN, proteína prión, PrPSc, huntingtina, calcitonina, superóxido dismutasa, ataxina, ataxina 1, ataxina 2, ataxina 3, ataxina 7, ataxina 8, ataxina 10, cuerpo de Lewy, factor natriurético auricular, polipéptido amiloide de los islotes, insulina, apolipoproteína AI, amiloide A sérico, medina, prolactina, transtiretina, lisozima, microglobulina beta 2, gelsolina, queratoepitelina, cistatina, AL de cadena ligera de inmunoglobulina, proteína S-IBM, productos de traducción no ATG asociados a la repetición (RAN), péptidos de repetición de dipéptidos (DPR), glicina-alanina (GA) repetir péptidos, glicina-pro péptidos de repetición de línea (GP), péptidos de repetición de glicina-arginina (GR), péptidos de repetición de prolina-alanina (PA), ubiquitina y péptidos de repetición de prolina-arginina (PR); y

(d) ligandos y / o proteínas expresados en células inmunes, donde los ligandos y / o proteínas seleccionados de PD1 / PDL1, CD40, OX40, ICOS, CD28, CD137 / 4-1BB, CD27, GITR, PD-L1, CTLA4, PD-L2, PD-1, B7-H3, B7-H4, HVEM, LIGHT, BTLA, CD30, TIGIT, VISTA, KIR, GAL9, TIM1, TIM3, TIM4, A2AR, LAG3, DR-5, CD2, CD5, CD39, CD73 y fosfatidilserina; y una proteína, lípido, polisacárido o glicolípido expresado en una o más células tumorales.

47. Un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-46.

48. Un vector que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 47.

49. Una célula huésped aislada que comprende el ácido nucleico de la reivindicación 47 o el vector de la reivindicación 48.

50. Una célula huésped aislada que expresa el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1-46.

51. Un método para producir un anticuerpo que se une a SIRPA humano, que comprende cultivar la célula de la reivindicación 49 o la reivindicación 50 para que se produzca el anticuerpo.

52. El método de la reivindicación 51, que comprende además recuperar el anticuerpo producido por la célula.

53. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-46 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.