

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Modificaciones Voluntarias)

1. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a ILT4 humano (hILT4), el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera, en donde la cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad 1 (CDR1), CDR2 y CDR3 de VH que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 155, 156 y 157, respectivamente, y, en donde la cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de 21D9 SEQ ID NOs: 158, 159 y 160, respectivamente.
2. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, el cual comprende:
 - a. una secuencia de aminoácidos de VH que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y una secuencia de aminoácidos de VL que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 - b. una secuencia de aminoácidos de VH que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 y una secuencia de aminoácidos de VL que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 - c. una secuencia de aminoácidos de VH que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una secuencia de aminoácidos de VL que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 - d. una secuencia de aminoácidos de VH que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 y una secuencia de aminoácidos de VL que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; o
 - e. una secuencia de aminoácidos de VH que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una secuencia de aminoácidos de VL que es al menos 90% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70.
3. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1 o 2, el cual comprende:
 - a. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71;
 - b. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;
 - c. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75;
 - d. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78; o
 - e. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80.
4. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1 o 2, el cual comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70.
5. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, que comprende:

- a. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 - b. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 - c. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70;
 - d. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; o
 - e. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70.
6. El anticuerpo aislado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, el cual es un anticuerpo de IgG.
7. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 6, el cual es un anticuerpo de IgG1, IgG2 o IgG4.
8. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 7, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG4 que comprende una sustitución de S228P (numeración EU).
9. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 6, 7, u 8, 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, o en donde el anticuerpo es un anticuerpo no efector.
10. El anticuerpo aislado de cualquiera de las Reivindicaciones 6 a 9, en donde la cadena pesada (HC) del anticuerpo tiene ausencia de un residuo lisina en el extremo C.
11. El anticuerpo aislado de cualquiera de las Reivindicaciones 6 a 9, el cual es un anticuerpo de longitud completa y en donde la cadena pesada del anticuerpo comprende o no comprende un residuo lisina en el extremo C.
12. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 3, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179.
13. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 12, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.
14. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 5, que comprende una región constante de

cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179.

15. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 14, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.

16. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, que comprende una cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 11.

17. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, que comprende una cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 176, SEQ ID NO: 177, o SEQ ID NO: 178.

18. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, que comprende:

- a. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- b. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- c. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- d. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- e. una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11;
- f. 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;
- g. 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; o
- h. 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.

19. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, el cual comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80.

20. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 1, el cual comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70.

21. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 19, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179.
22. El anticuerpo aislado de la Reivindicación 20, que comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 98, 100, 102, 103, 104, o 179.
23. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hILT4, el anticuerpo comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80, una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, y una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.
24. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a hILT4, el anticuerpo comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11.
25. Un ácido nucleico aislado, que codifica la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24.
26. Una célula huésped que comprende el ácido nucleico aislado de la Reivindicación 25.
27. Un método para preparar un anticuerpo, que comprende cultivar la célula de la Reivindicación 26 en condiciones bajo las cuales se expresa el anticuerpo.
28. Un conjunto de al menos dos ácidos nucleicos aislados, en donde el primer ácido nucleico codifica la cadena pesada y el segundo ácido nucleico codifica la cadena ligera de un anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24.
29. Una célula huésped que comprende el conjunto de al menos dos ácidos nucleicos aislados de la Reivindicación 28.
30. Un método para preparar un anticuerpo, que comprende cultivar la célula de la Reivindicación 29 en condiciones bajo las cuales se expresa el anticuerpo.
31. Una composición, que comprende un ácido nucleico que codifica la cadena pesada de un anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24 y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera del anticuerpo de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24.
32. Una composición, que comprende un anticuerpo aislado de cualquiera de las

Reivindicaciones 1 a 24 y un portador farmacéuticamente aceptable.

33. Un método para detectar hILT4 en una muestra, que comprende poner en contacto la muestra con un anticuerpo hILT4 de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24.

34. El anticuerpo aislado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24, que tiene una o más de las siguientes características:

- ausencia de unión específica a hILT2, hILT3, y/o hILT5;
- ausencia de unión específica a hILT2, hILT3, y hILT5;
- se une específicamente a un ILT4 cyno que comprende la SEQ ID NO: 118.

35. El anticuerpo aislado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24, que tiene:

- (i) 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 monocitos 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 I70, en donde la numeración de aminoácidos de hILT4 es aquella del hILT4 inmaduro (es decir, ILT4 que comprende su secuencia señal natural); o
- (ii) 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 (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 monocitos 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; o
- (iii) 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 linfocitos T CD4+ y CD8+ 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) ¹⁵⁴ILCKEGEEHPQCLNSQPHARGSSRAIF¹⁸¹ (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.

36. Una composición, que comprende un anticuerpo aislado de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 24 y un portador farmacéuticamente aceptable.

37. La composición de la Reivindicación 36, que comprende un segundo agente terapéutico.

38. La composición de la Reivindicación 37, caracterizada porque el segundo agente terapéutico es un antagonista de PD-1/PD-L1, CTLA-4 o LAG-3, o un agonista de GITR o OX40.

ANEXO EXPLICATIVO DE LAS MODIFICACIONES

- se eliminan las antiguas Reivindicaciones 2 a 12, 17, 19 a 24, 27, 28, 30, 32, 36 a 44, 48, 49, 51 a 59;
- se limita la Reivindicación 1, de acuerdo al alcance de las antiguas Reivindicaciones 2 y 3;
- se adiciona la nueva Reivindicación 2, la cual encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 13;
- se adiciona la nueva Reivindicación 3, la cual encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 10;
- se adiciona la nueva Reivindicación 4, la cual encuentra soporte en el alcance de las antiguas Reivindicación 11;
- se adiciona la nueva Reivindicación 5, la cual encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 14;
- la nueva Reivindicación 6 corresponde a la antigua Reivindicación 15;
- se adicionan las nuevas Reivindicaciones 7 y 8, las cuales encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 16;
- se modifica la nueva Reivindicación 9 (antigua Reivindicación 18), en donde se adiciona la expresión *"en donde el anticuerpo es un anticuerpo no efector"*, lo cual encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 17,
- en la nueva Reivindicación 10 (antigua Reivindicación 25), se adiciona la expresión *"en donde la cadena pesada"*;
- se adicionan las nuevas Reivindicaciones 12 a 15, 21 y 22 las cuales encuentran soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 26;
- se adiciona la nueva Reivindicación 16, la cual encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 29;
- se adiciona la nueva Reivindicación 17, la cual encuentra soporte en los literales (a) y (c) de la antigua Reivindicación 24, y en el literal (j) la antigua Reivindicación 31;
- se adiciona la nueva Reivindicación 18, la cual encuentra soporte en los literales (f) y (j) de la antigua Reivindicación 31, en el literal (c) de la antigua Reivindicación 24 y en la antigua Reivindicación 29;
- se adiciona la nueva Reivindicación 23, la cual encuentra soporte en el literal (j) de la antigua Reivindicación 14 y en la antigua Reivindicación 19;
- las nuevas Reivindicaciones 11, 24, 25, 31, 33, 37 y 38 corresponden a las antiguas Reivindicaciones 37, 32, 45, 47, 60, 51 y 53, respectivamente;
- se adicionan las nuevas Reivindicaciones 19 y 20, las cuales encuentran soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 12 (anticuerpo anti- ILT4 2ID9.e);
- se adicionan las nuevas Reivindicaciones 26 y 29, las cuales encuentran soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 48;

- se adicionan las nuevas Reivindicaciones 27 y 30, las cuales encuentran soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 49;
- se adiciona la nueva Reivindicación 28, la encuentra soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 46;
- se adiciona las nuevas Reivindicaciones 32 y 36, las cuales encuentran soporte en el alcance de la antigua Reivindicación 50;
- se adiciona la nueva Reivindicación 34, la encuentra soporte en el alcance de las antiguas Reivindicaciones 62 (literal b) y 63 (literal h);
- se adiciona la nueva Reivindicación 35, la encuentra soporte en el alcance de las antiguas Reivindicaciones 61 a 63.