

AGENTES DE UNIÓN A ILT3 Y CD3 Y MÉTODOS DE USO DE ESTOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 63/325,101, presentada el 29 de marzo de 2022 y la solicitud provisional estadounidense n.º 63/386,634, presentada el 8 de diciembre de 2022, el contenido de cada una de las cuales se incorpora mediante esta referencia en su totalidad.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0002] Esta solicitud contiene un listado de secuencias legible por computadora que se ha enviado en formato de archivo XML con esta solicitud, cuyo contenido completo se incorpora a la presente mediante referencia en su totalidad. El archivo XML de listado de secuencias enviado con esta solicitud se titula «13370-172-228_SEQLISTING.xml» y se creó el 24 de marzo de 2023 y tiene un tamaño de 189 173 bytes.

1. CAMPO

[0003] La presente divulgación se refiere a agentes de unión a ILT3 × CD3 que se unen al transcrito 3 similar a la inmunoglobulina (ILT3) y CD3, composiciones que los comprenden y métodos de uso de estos. La presente divulgación también se refiere a polinucleótidos y vectores que codifican dichos agentes de unión a ILT3 × CD3.

2. ANTECEDENTES

[0004] La base de la inmunoterapia es la manipulación y/o modulación del sistema inmunitario, lo que incluye tanto las respuestas inmunitarias innatas como las respuestas inmunitarias adaptativas. El objetivo general de la inmunoterapia es tratar enfermedades controlando la respuesta inmunitaria a un «agente extraño», por ejemplo, un patógeno o una célula tumoral. Sin embargo, en algunos casos, la inmunoterapia se usa para tratar enfermedades autoinmunitarias, que pueden surgir de una respuesta inmunitaria anormal contra proteínas, moléculas y/o tejidos normalmente presentes en el cuerpo. La inmunoterapia puede incluir métodos para inducir o potenciar respuestas inmunitarias específicas o para inhibir o reducir respuestas inmunitarias específicas.

[0005] El concepto de inmunovigilancia del cáncer se basa en la teoría de que el sistema inmunitario puede reconocer las células tumorales, generar una respuesta inmunitaria y suprimir el desarrollo y/o crecimiento de un tumor. Sin embargo, está claro que muchas células cancerosas han desarrollado mecanismos y/o interceptado los mecanismos inhibidores normales para evadir el sistema inmunitario, lo que puede permitir el crecimiento desinhibido de los tumores. La inmunoterapia del cáncer/tumores (inmunoncología) se centra en el desarrollo de agentes nuevos y novedosos que pueden activar y/o reforzar el sistema inmunitario para lograr un ataque más eficaz contra las células cancerosas/tumorales, lo que resulta en una mayor destrucción de células cancerosas/tumorales y/o la inhibición del crecimiento

del cáncer/tumor. Sigue existiendo una necesidad en la técnica de moléculas más eficaces para tratar diversas enfermedades o trastornos.

3. COMPENDIO

[0006] En un aspecto, la presente divulgación proporciona un agente de unión que comprende una primera región de unión que se une a ILT3 humano y una segunda región de unión que se une a CD3 humana, en donde la región de unión a CD3 comprende un anti-CD3 scFv.

[0007] En determinadas modalidades, la primera región de unión comprende un anti-ILT3 Fab. En determinadas modalidades, la afinidad de unión de la primera región de unión para ILT3 humano es mayor que la afinidad de unión de la segunda región de unión para CD3 humana. En determinadas modalidades, la afinidad de unión de la primera región de unión para ILT3 humano es entre alrededor de 10 veces y alrededor de 100 veces mayor que la afinidad de unión de la segunda región de unión para CD3 humana. En determinadas modalidades, el agente de unión comprende además una región Fc.

[0008] En determinadas modalidades, el agente de unión comprende (i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3; (ii) un segundo polipéptido que comprende un dominio VH de la primera región de unión, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y (iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL de la primera región de unión y un dominio CL, en donde el dominio VH de la primera región de unión, el dominio CH1, el dominio VL de la primera región de unión y el dominio CL forman el anti-ILT3 Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

[0009] En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

[0010] En determinadas modalidades, la segunda región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149; y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150.

[0011] En determinadas modalidades, en la segunda región de unión, el dominio VH de la segunda región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154; y el dominio VL de la segunda región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la

LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.

[0012] En determinadas modalidades, la primera región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

[0013] En determinadas modalidades, en la primera región de unión, (a) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (b) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (c) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (d) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o (e) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 que comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

[0014] En determinadas modalidades, (i) la primera región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; o (ii) la primera región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

[0015] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un agente de unión que comprende una primera región de unión que se une a ILT3 humano y una segunda región de unión que se une a CD3 humana, en donde la segunda región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150.

[0016] En determinadas modalidades, el dominio VH de la segunda región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154; y el dominio VL de la segunda región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155; la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156; y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.

[0017] En determinadas modalidades, la primera región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18

[0018] En determinadas modalidades, en la primera región de unión, (a) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión

comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (b) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (c) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (d) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o (e) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

[0019] En determinadas modalidades, (i) la primera región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; o (ii) la primera región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la

SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

[0020] En determinadas modalidades, la primera región de unión comprende un anti-ILT3 Fab. En determinadas modalidades, la segunda región de unión comprende un anti-CD3 scFv. En determinadas modalidades, el agente de unión comprende además una región Fc.

[0021] En determinadas modalidades, el agente de unión comprende: (i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3; (ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH de la primera región de unión, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y (iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL de la primera región de unión y un dominio CL, en donde el dominio VH de la primera región de unión, el dominio CH1, el dominio VL de la primera región de unión y el dominio CL forman el anti-ILT3 Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

[0022] En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

[0023] En determinadas modalidades, (i) el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y el tercer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20, o (ii) el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y el tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

[0024] En determinadas modalidades, la primera región de unión comprende dos anti-ILT3 Fab idénticos, y la segunda región de unión comprende un anti-CD3 scFv.

[0025] En determinadas modalidades, el agente de unión comprende: (i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3; (ii) un segundo polipéptido que comprende un primer dominio VH, un segundo dominio VH, un primer dominio CH1, un segundo dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3, en donde cada uno del primer y segundo dominio VH comprende el dominio VH de la primera región de unión; (iii) un tercer polipéptido

que comprende un primer dominio VL y un primer dominio CL, en donde el primer dominio VL comprende el dominio VL de la primera región de unión; y (iv) un cuarto polipéptido que comprende un segundo dominio VL y un segundo dominio CL, en donde el segundo dominio VL comprende el dominio VL de la primera región de unión, en donde el primer dominio VH y el primer dominio CH1 del segundo polipéptido y el primer dominio VL y el primer dominio CL del tercer polipéptido forman una primera región Fab, el segundo dominio VH y el segundo dominio CH1 del segundo polipéptido y el segundo dominio VL y el segundo dominio CL del cuarto polipéptido forman una segunda región Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

[0026] En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

[0027] En determinadas modalidades, (i) el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, el tercer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y el cuarto polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20; o (ii) el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, el tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y el cuarto polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

[0028] En determinadas modalidades, el anti-CD3 scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151. En determinadas modalidades, el agente de unión es un anticuerpo humanizado.

[0029] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un agente de unión que comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 humana, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3; (ii) un segundo polipéptido que comprende un dominio VH que se une a ILT3 humano, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y (iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3 humano y un dominio CL, en donde el scFv que se une a CD3 humana comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150; y en donde el dominio VH que se une a ILT3 humano comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3

de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que se une a ILT3 humano comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

[0030] En determinadas modalidades, (a) la HCDR1 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153, la HCDR3 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154, la LCDR1 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la LCDR2 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156, y la LCDR3 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157; y (b) en el dominio VH que se une a ILT3 humano y el dominio VL que se une a ILT3 humano (i) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (ii) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (iii) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; (iv) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o (v) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15; y el LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

[0031] En determinadas modalidades, el dominio VH del scFv que se une a CD3 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y el dominio VL del scFv que se une a CD3 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; y el dominio VH que se une a ILT3

humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17; y el dominio VL que se une a ILT3 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18. En determinadas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

[0032] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un polinucleótido aislado que codifica el agente de unión divulgado en este documento.

[0033] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un vector que comprende el polinucleótido divulgado en este documento.

[0034] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una célula aislada que comprende el polinucleótido o el vector divulgados en este documento.

[0035] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una célula aislada que produce el agente de unión divulgado en este documento.

[0036] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende el agente de unión divulgado en este documento, el polinucleótido aislado divulgado en este documento, el vector divulgado en este documento o la célula aislada divulgada en este documento, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0037] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para dirigir un linfocito T a una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión divulgado en este documento o la composición farmacéutica divulgada en este documento.

[0038] En determinadas modalidades, el linfocito T induce la destrucción de la célula cancerosa o la célula tumoral que expresa ILT3. En determinadas modalidades, la célula cancerosa o tumoral es una célula cancerosa o tumoral hematológica. En determinadas modalidades, la célula tumoral o cancerosa hematológica se selecciona del grupo que consiste en una célula de leucemia mielógena aguda (AML, por su sigla en inglés), una célula de AML M4/M5, una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML, por su sigla en inglés), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL, por su sigla en inglés), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL, por su sigla en inglés), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL, por su sigla en inglés), una célula de linfoma de células del manto (MCL, por su sigla en inglés), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS, por su sigla en inglés), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL, por su sigla en inglés), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN, por su sigla en inglés), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT, por su sigla en inglés). En determinadas modalidades, el linfocito T no logra inducir la destrucción de una célula madre hematopoyética (HSC, por su sigla en inglés) normal.

[0039] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para activar un linfocito T, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión divulgado en este documento o la composición farmacéutica divulgada en este documento, en donde la segunda región de unión se une al linfocito T.

5 **[0040]** En determinadas modalidades, el linfocito T es un linfocito T virgen. En determinadas modalidades, el linfocito T se expande policlonalmente a partir de una población de PBMC.

[0041] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para destruir o inhibir la proliferación de una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3, que comprende poner en contacto la célula cancerosa o tumoral con el agente de unión divulgado en este documento o la composición
10 farmacéutica divulgada en este documento.

[0042] En determinadas modalidades, el agente de unión activa un linfocito T. En determinadas modalidades, el linfocito T activado induce la destrucción de la célula cancerosa o tumoral.

[0043] En determinadas modalidades, la célula cancerosa o tumoral comprende una célula cancerosa o tumoral hematológica. En determinadas modalidades, la célula tumoral o cancerosa
15 hematológica se selecciona del grupo que consiste en una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de AML M4/M5, una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula
20 de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

[0044] En otro aspecto, la presente divulgación proporciona un método para tratar un cáncer o un
25 tumor que expresa ILT3 en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz del agente de unión divulgado en este documento o la composición farmacéutica divulgada en este documento al sujeto.

[0045] En determinadas modalidades, el cáncer o tumor comprende un cáncer o tumor hematológico. En determinadas modalidades, la célula tumoral o cancerosa hematológica se selecciona
30 del grupo que consiste en leucemia mielógena aguda (AML), AML M4/M5, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto (MCL), mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmocitoide (LPL), linfoma folicular, linfoma de Burkitt, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), linfoma

de la zona marginal o linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0046] La **Figura 1** muestra un anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ilustrativo (ABX1446) divulgado en este documento. El brazo izquierdo (segunda región de unión del anticuerpo) representa un anti-CD3 scFv proporcionado en el presente documento y el brazo derecho (primera región de unión del anticuerpo) representa un anti-ILT3 Fab proporcionado en el presente documento.

[0047] La **Figura 2** muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC, por su sigla en inglés) con diferentes anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 (hz45G10-2B2, 16C5-2B2 y 12A12-2B2). Se utilizó anti-KLH como control negativo.

[0048] La **Figura 3** muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) con diferentes anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 (hz45G10-1G4, 16C5-1G4 y 12A12-1G4). Se utilizó anti-KLH como control negativo.

[0049] La **Figura 4** muestra los resultados de un ensayo de producción de citocina TNFα con diferentes anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 (hz45G10-2B2, 3A3-2B2 y 12A12-2B2). Se utilizó anti-KLH como control negativo.

[0050] La **Figura 5** muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) en células AML con anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

[0051] La **Figura 6** muestra los resultados de un ensayo de producción de citocina TNFα con anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

[0052] La **Figura 7** muestra varios formatos del anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ilustrativo proporcionado en este documento.

[0053] La **Figura 8** muestra la actividad de citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) de varios formatos (**Figura 7**) de anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 en células MOLM13, cuando se utilizaron linfocitos T expandidos como efectores. Anti-KLH representa el control negativo y Vibecotamab (biespecífico CD123 × CD3) representa el control positivo.

[0054] La **Figura 9** muestra la liberación de citocina TNFα cuando se agregó una muestra de sangre completa a placas que estaban recubiertas previamente con anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 en varios formatos (**Figura 7**) en las concentraciones indicadas (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 50 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL y 0,1 µg/mL respectivamente).

[0055] La **Figura 10** muestra la liberación de citocina TNFα cuando se agregó una muestra de sangre completa a medio de cultivo que contenía anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 soluble en varios formatos (**Figura 7**) en las concentraciones indicadas (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL y 0,1 µg/mL respectivamente).

[0056] La **Figura 11** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) indujo una potente apoptosis de células AML ILT3 positivas (ILT3⁺) (MOLM13) cuando se utilizaron linfocitos T expandidos como efectores. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

5 **[0057]** La **Figura 12** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) indujo una potente apoptosis de células AML ILT3 positivas (ILT3⁺) (MOLM13) cuando se utilizaron linfocitos T vírgenes como efectores. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

10 **[0058]** La **Figura 13** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) indujo la apoptosis de células OCI-AML-2 con baja expresión de ILT3. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

[0059] La **Figura 14** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) indujo la apoptosis de células NALM-1 que tienen baja expresión de ILT3. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

15 **[0060]** La **Figura 15** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) indujo una apoptosis de células OCI-AML-2, que tenían una baja expresión de ILT3, cuando se utilizaron linfocitos T vírgenes como efectores. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

20 **[0061]** La **Figura 16** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) indujo una apoptosis de células NALM-1, que tenían una baja expresión de ILT3, cuando se utilizaron linfocitos T vírgenes como efectores. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

25 **[0062]** La **Figura 17** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) no pudo inducir la apoptosis de células THP-1 con inactivación de ILT3. Se utilizó vibecotamab, un biespecífico CD123 × CD3, como control positivo. Se utilizó anti-KLH como control negativo.

30 **[0063]** La **Figura 18** muestra los resultados de la producción de citocina TNFα en PBMC incubados con concentraciones en aumento (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL y 0,1 µg/mL respectivamente) de formato recubierto en placa anti-KLH (control negativo), Vibecotamab (biespecífico CD123 × CD3) y el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520). Se incluyó enterotoxina estafilocócica B soluble (SEB, por su sigla en inglés) como control positivo.

[0064] La **Figura 19** muestra los resultados de la producción de citocina TNFα en PBMC incubados con concentraciones en aumento (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 10 µg/mL, 1 µg/mL, 0,1 µg/mL y 0,01 µg/mL respectivamente) de anti-KLH soluble (control

negativo), SEB (enterotoxina estafilocócica B; control positivo), Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3) y el anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446 y ABX1520) que se proporciona en el presente documento.

[0065] La **Figura 20** muestra los resultados de un ensayo de secreción de citocina TNFα en sangre completa incubada con concentraciones en aumento (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 10 µg/mL, 1 µg/mL, 0,1 µg/mL y 0,01 µg/mL respectivamente) de anti-KLH recubierto en placa (control negativo), Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3) y el anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 en dos formatos diferentes, que incluyen F0 (ABX1446) y F13 (ABX1520) (ver la **Figura 7**). Se incluyó enterotoxina estafilocócica B soluble (SEB) como control positivo.

[0066] La **Figura 21** muestra los resultados del ensayo de secreción de citocina TNFα en sangre completa incubada con concentraciones en aumento (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 10 µg/mL, 1 µg/mL, 0,1 µg/mL y 0,01 µg/mL respectivamente) de anti-KLH soluble (control negativo), SEB (enterotoxina estafilocócica B; control positivo), Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3) y el anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 en dos formatos diferentes, que incluyen F0 (ABX1446) y F14 (ABX1521) (ver la **Figura 7**).

[0067] La **Figura 22** muestra que el anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446) indujo una secreción de citocinas TNFα baja en ensayos TDCC con células AML ILT3 positivas (ILT3⁺) (MOLM13) cuando se utilizaron linfocitos T vírgenes como efectores. Anti-KLH representa el control negativo (control negativo) y Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3) representa el control positivo.

[0068] La **Figura 23** muestra que el anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 (ABX1446) indujo una secreción de citocinas IL6 baja en ensayos TDCC con células AML ILT3 positivas (ILT3⁺) (MOLM13) cuando se utilizaron linfocitos T vírgenes como efectores. Anti-KLH representa el control negativo y Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3) representa el control positivo.

[0069] La **Figura 24** muestra los resultados de un ensayo de citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) con anti-KLH (control negativo), Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3) y anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 ABX1446 y Flotetuzumab (CD123 × CD3 DART).

[0070] La **Figura 25** muestra los resultados de un ensayo de secreción de citocina TNFα en sangre completa incubada con concentraciones en aumento (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 10 µg/mL, 1 µg/mL, 0,1 µg/mL y 0,01 µg/mL respectivamente) de anti-KLH soluble (control negativo), SEB (enterotoxina estafilocócica B; control positivo), Vibecotamab (bienespecífico CD123 × CD3), el anticuerpo bienespecífico ILT3 × CD3 ABX1446 y Flotetuzumab (CD123 × CD3 DART).

[0071] La **Figura 26** muestra la expansión de linfocitos T CD3 positivos (CD3⁺) (como un porcentaje de PBMC totales) en PBMC aislados de un paciente con AML M5 en concentraciones en aumento (para

cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 0,1 µg/mL, 1 µg/mL y 10 µg/mL respectivamente) de anti-KLH (control negativo), Vibecotamab (biespecífico CD123 × CD3) y anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ABX1446.

[0072] La **Figura 27** muestra la expansión de linfocitos T CD25 positivos (CD25⁺) (como un porcentaje de linfocitos T totales) en PBMC aislados de un paciente con AML M5 en concentraciones en aumento (para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 0,1 µg/mL, 1 µg/mL y 10 µg/mL respectivamente) de anti-KLH (control negativo), Vibecotamab (biespecífico CD123 × CD3) y anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ABX1446.

[0073] La **Figura 28** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ABX1446 no pudo inducir citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) contra células madre hematopoyéticas (HSC) CD34 positivas (CD34⁺), mientras que Vibecotamab (biespecífico CD123 × CD3) indujo TDCC contra CD34⁺ HSC. Para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 0,0006 µg/mL, 0,005 µg/mL, 0,04 µg/mL, 0,3 µg/mL y 2,5 µg/mL respectivamente.

[0074] La **Figura 29** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ABX1446 no pudo inducir la apoptosis contra células madre hematopoyéticas (HSC) CD34 positivas (CD34⁺), mientras que Vibecotamab (biespecífico CD123 × CD3) indujo apoptosis contra CD34⁺ HSC. Para cada grupo de tratamiento, las barras de izquierda a derecha representan 0,001 µg/mL, 0,01 µg/mL, 0,1 µg/mL y 1,0 µg/mL respectivamente.

[0075] La **Figura 30** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ABX1446 no pudo inducir la apoptosis contra basófilos KU812 no monocíticos.

[0076] La **Figura 31** muestra que el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 ABX1446 no pudo inducir la apoptosis contra basófilos LAMA84 no monocíticos.

[0077] La **Figura 32** muestra la actividad citotóxica celular dependiente de linfocitos T (TDCC) de diversos formatos (**Figura 7**) de anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 en células MM1S, cuando se usaron linfocitos T expandidos como efectores. Anti-KLH representa el control negativo y Blincyto (BiTe CD3 × CD19) representa el control positivo.

[0078] La **Figura 33** muestra la actividad citotóxica celular dependiente de linfocitos T (TDCC) de diversos formatos (**Figura 7**) de anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 en células H929, cuando se usaron linfocitos T expandidos como efectores. Anti-KLH representa el control negativo y Blincyto (BiTe CD3 × CD19) representa el control positivo.

[0079] La **Figura 34** muestra la actividad citotóxica celular dependiente de linfocitos T (TDCC) de diversos formatos (**Figura 7**) de anticuerpos biespecíficos ILT3 × CD3 en células U226B1, cuando se usaron linfocitos T expandidos como efectores. Anti-KLH representa el control negativo y Blincyto (BiTe CD3 × CD19) representa el control positivo.

[0080] La **Figura 35** muestra el esquema de tratamiento y la cuantificación de la carga tumoral en un modelo de AML de ratón. Los ratones fueron irradiados 48 horas antes de la inyección con células MOLM13 o MV4;11. El día 2, se inyectaron linfocitos T expandidos en los ratones que recibieron células MOLM13 o se inyectaron PBMC completos en ratones que recibieron células MV4;11. Luego se inyectó ABX1446 el día 7, el día 14, el día 21 y el día 28. A continuación se cuantificó la carga tumoral en la sangre periférica utilizando FACS y la ecuación $n.^{\circ}$ de células adquiridas/ $n.^{\circ}$ de microesferas adquiridas $\times 1000$.

[0081] La **Figura 36** muestra que ABX1446 y ABX1520 redujeron la carga tumoral circulante en el modelo de AML de ratón MOLM13. NTB representa ratones que no presentan tumores, anti-KLH representa el control negativo, hz45G10 representa un anticuerpo ILT3 que comprende una sustitución N297G en la región Fc, IO-202 representa un anticuerpo monoclonal que antagoniza ILT3, ABX1559 corresponde a un anticuerpo que carece de la región de unión Fab de ILT3 y, por lo tanto, representa un control solo anti-CD3, y Vibecotamab (bienespecífico CD123 $\times$ CD3) representa un control positivo.

[0082] La **Figura 37** muestra que ABX1446 redujo la carga tumoral circulante en el modelo de AML de ratón MV4;11 en la semana 2. NTB representa ratones que no presentan tumores, anti-KLH representa el control negativo y Vibecotamab (bienespecífico CD123 $\times$ CD3) representa un control positivo (en concentraciones en aumento de 0,01 mpk, 0,1 mpk y 1 mpk, de izquierda a derecha).

[0083] La **Figura 38** muestra que ABX1446 redujo la carga tumoral circulante en el modelo de AML de ratón MV4;11 en la semana 3. NTB representa ratones que no presentan tumores, anti-KLH representa el control negativo y Vibecotamab (bienespecífico CD123 $\times$ CD3) representa un control positivo (en concentraciones en aumento de 0,01 mpk, 0,1 mpk y 1 mpk, de izquierda a derecha).

[0084] La **Figura 39** muestra el esquema de tratamiento y la cuantificación de la carga tumoral en un modelo de AML de ratón. Las células madre hematopoyéticas (HSC) CD34+ se injertaron en ratones 3 meses antes de la inyección con células MV4;11. El día 7, el día 14, el día 21 y el día 28, se inyectó ABX1446. A continuación, se cuantificó la carga tumoral utilizando FACS y la ecuación $n.^{\circ}$ de células adquiridas/ $n.^{\circ}$ de microesferas adquiridas $\times 1000$.

[0085] La **Figura 40** muestra que ABX1446 redujo la carga tumoral circulante en ratones humanizados CD34+. Cuando se administró una dosis de anti-KLH (control negativo), Vibecotamab (bienespecífico CD123 $\times$ CD3; control positivo) y ABX1446 a 1 mpk, la cantidad de células MV4;11 circulantes por 1 μ L de sangre se redujo considerablemente.

[0086] La **Figura 41** muestra el agotamiento de células tumorales dependiente de la dosis inducida por ABX1446 en cultivos primarios de médula ósea con AML M5.

[0087] La **Figura 42** muestra la activación de linfocitos T dependientes de la dosis inducida por ABX1446 en cultivos primarios de médula ósea con AML M5.

[0088] La **Figura 43** muestra el agotamiento de células tumorales dependiente de la dosis inducida por ABX1446 en cultivos primarios de médula ósea con MM.

[0089] La **Figura 44** muestra la activación de linfocitos T dependientes de la dosis inducida por ABX1446 en cultivos primarios de médula ósea con MM.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0090] La presente divulgación se basa, en parte, en los agentes de unión novedosos proporcionados en este documento y sus sorprendentes propiedades.

[0091] A menos que se defina lo contrario en el presente, los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen los significados que entienden comúnmente los expertos en la técnica.

10 Cuando sea adecuado, los términos usados en singular también incluirán el plural y viceversa. En el caso de que cualquier descripción de un término establecido entre en conflicto con cualquier documento incorporado al presente mediante referencia, prevalecerá la descripción del término establecido a continuación.

[0092] El término «agente de unión», tal como se usa en el presente, hace referencia a una molécula
15 que se une a un antígeno o diana específicos (p. ej., ILT3 y/o CD3). Un agente de unión puede comprender una proteína, un péptido, un ácido nucleico, un carbohidrato, un lípido o un compuesto de peso molecular pequeño. En algunas modalidades, un agente de unión comprende un anticuerpo de longitud completa. En algunas modalidades, un agente de unión es un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo. En algunas modalidades, un agente de unión comprende un armazón proteínico
20 alternativo o estructura base artificial (p. ej., un esqueleto que no es de inmunoglobulina). En algunas modalidades, un agente de unión es una proteína de fusión que comprende un sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, un agente de unión es una molécula biespecífica que comprende al menos dos sitios de unión al antígeno.

[0093] Los términos «une» o «unión» hacen referencia a una interacción entre moléculas que
25 incluye, por ejemplo, formar un complejo. Las interacciones pueden ser, por ejemplo, interacciones no covalentes que incluyen puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrófobas y/o interacciones de van der Waals. Un complejo también puede incluir la unión de dos o más moléculas unidas mediante enlaces, interacciones o fuerzas covalentes y no covalentes. La intensidad de las interacciones no covalentes totales entre un sitio de unión al antígeno único en un anticuerpo y un
30 epítipo único de una molécula diana, tal como un antígeno, es la afinidad del anticuerpo o fragmento funcional por ese epítipo. La relación de la velocidad de disociación (k_{off}) con respecto a la velocidad de asociación (k_{on}) de una molécula de unión (p. ej., un anticuerpo) con respecto a un antígeno monovalente (k_{off}/k_{on}) es la constante de disociación K_D , que se relaciona de forma inversa con la afinidad. Cuánto más bajo sea el valor de K_D , más alta es la afinidad del anticuerpo. El valor de K_D varía para diferentes

complejos de anticuerpo y antígeno y depende tanto de la k_{on} como de la k_{off} . La constante de disociación K_D para un anticuerpo proporcionado en la presente puede determinarse usando cualquier método proporcionado en la presente o cualquier otro método conocido por los expertos en la técnica. La afinidad en un sitio de unión no siempre refleja la verdadera intensidad de la interacción entre un anticuerpo y un antígeno. Cuando los antígenos complejos que contienen múltiples determinantes antigénicos de repetición, como un antígeno polivalente, entran en contacto con anticuerpos que contienen múltiples sitios de unión, la interacción del anticuerpo con un antígeno en un sitio aumentará la probabilidad de una reacción en un segundo sitio. La intensidad de dichas interacciones múltiples entre un anticuerpo y un antígeno multivalentes se denomina avidéz.

10 **[0094]** En relación con las moléculas de unión descritas en la presente, términos como «se unen a», «que se unen específicamente a» y términos análogos también se usan indistintamente en la presente y se refieren a moléculas de unión de dominios de unión al antígeno que se unen específicamente a un antígeno, como un polipéptido. Una molécula de unión o un dominio de unión al antígeno que se une o se une específicamente a un antígeno puede identificarse, por ejemplo, mediante inmunoensayos, 15 Octet®, Biacore® u otras técnicas conocidas por los expertos en la técnica. En algunas modalidades, una molécula de unión o un dominio de unión al antígeno se une o se une específicamente a un antígeno cuando se une a un antígeno con mayor afinidad que a cualquier antígeno de reactividad cruzada según se determina usando técnicas experimentales, como ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA). Normalmente, una reacción específica o selectiva será al menos el doble de la señal o ruido de fondo y 20 puede ser más de 10 veces la actividad de fondo. Véase, p. ej., Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2.^a ed. 1989) para una reseña sobre la especificidad de unión. En determinadas modalidades, el grado de unión de una molécula de unión o dominio de unión al antígeno a una proteína «no objetivo» es inferior a alrededor del 10 % de la unión de la molécula de unión o dominio de unión al antígeno a su antígeno objetivo particular, por ejemplo, según lo determinado por clasificación de células activada por fluorescencia (FACS). Una molécula de unión o un dominio de unión al antígeno que se une a un 25 antígeno incluye uno que es capaz de unirse al antígeno con la suficiente afinidad para que la molécula de unión sea útil, por ejemplo, como agente terapéutico y/o agente de diagnóstico en la selección del antígeno. En determinadas modalidades, una molécula de unión o dominio de unión al antígeno que se une a un antígeno tiene una constante de disociación (K_D) inferior o igual a 1 μ M, 800 nM, 600 nM, 550 nM, 500 nM, 300 nM, 250 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM, 0,9 nM, 0,8 nM, 0,7 nM, 0,6 nM, 0,5 nM, 0,4 nM, 0,3 nM, 0,2 nM o 0,1 nM. En determinadas modalidades, una 30 molécula de unión o dominio de unión al antígeno se une a un epítipo de un antígeno que se conserva entre el antígeno de diferentes especies.

[0095] El término «anticuerpo» se usa en la presente en el sentido más amplio y abarca varias

estructuras de anticuerpos, que incluyen, de modo no taxativo, una molécula de inmunoglobulina que reconoce y se une a una diana a través de al menos un sitio de unión al antígeno, anticuerpos policlonales, anticuerpos recombinantes, anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos multiespecíficos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, anticuerpos Fv monocatenarios (scFv), y fragmentos de anticuerpos, siempre que presenten la actividad de unión al antígeno deseada.

[0096] Una unidad de anticuerpos de 4 cadenas típica es una glicoproteína heterotetramérica compuesta por dos cadenas ligeras (L) idénticas y dos cadenas pesadas (H) idénticas. En el caso de las IgG, la unidad de 4 cadenas generalmente es de alrededor de 150 000 daltons. Cada cadena L está unida a una cadena H por un puente disulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H están unidas entre sí por uno o más puentes disulfuro dependiendo del isotipo de la cadena H. Cada cadena H y L también tiene puentes disulfuro intracatenarios regularmente espaciados. Cada cadena H tiene, en el extremo N, un dominio variable (VH) seguido de tres dominios constantes (CH) para cada una de las cadenas α y γ y cuatro dominios CH para los isotipos μ y ϵ . Cada cadena L tiene, en el extremo N, un dominio variable (VL) seguido de un dominio constante (CL) en su otro extremo. El VL está alineado con el VH y el CL está alineado con el primer dominio constante de la cadena pesada (CH1). Se cree que los residuos particulares de aminoácidos forman una interfaz entre los dominios variables de cadena ligera y de cadena pesada. El emparejamiento de un VH y VL forma un único sitio de unión al antígeno. Para la estructura y propiedades de las diferentes clases de anticuerpos, ver, por ejemplo, Basic and Clinical Immunology 71 (Stites *et al.* eds., 8.^a ed. 1994); e Immunobiology (Janeway *et al.* eds., 5.^a ed. 2001).

[0097] El término «Fab» o «región Fab» se refiere a una región de anticuerpo que se une a antígenos. Una IgG convencional generalmente comprende dos regiones Fab, cada una de las cuales reside en uno de los dos brazos de la estructura de IgG en forma de Y. Cada región Fab está compuesta típicamente por una región variable y una región constante de cada una de la cadena pesada y ligera. Más específicamente, la región variable y la región constante de la cadena pesada en una región Fab son regiones VH y CH1, y la región variable y la región constante de la cadena ligera en una región Fab son regiones VL y CL. Las VH, CH1, VL y CL en una región Fab se pueden organizar de varias formas para conferir una capacidad de unión al antígeno según la presente descripción. Por ejemplo, las regiones VH y CH1 pueden estar en un polipéptido, y las regiones VL y CL pueden estar en un polipéptido separado, de manera similar a una región Fab de una IgG convencional. De manera alternativa, las regiones VH, CH1, VL y CL pueden estar todas en el mismo polipéptido y orientadas en diferentes órdenes como se describe con más detalle en las secciones siguientes.

[0098] En algunas modalidades, el Fab es un Fab monocatenario (scFab), en donde la cadena

pesada y la cadena ligera del Fab están conectadas por un conector polipeptídico.

[0099] La expresión «región variable», «dominio variable», «región V» o «dominio V» hace referencia a una parte de las cadenas ligera o pesada de un anticuerpo que se ubica generalmente en el extremo amino de la cadena ligera o pesada y tiene una longitud de alrededor de 120 a 130 aminoácidos en la cadena pesada y alrededor de 100 a 110 aminoácidos en la cadena ligera y se utilizan en la unión y especificidad de cada anticuerpo particular para su antígeno particular. La región variable de la cadena pesada puede denominarse «VH». La región variable de la cadena ligera puede denominarse «VL». El término «variable» hace referencia a que determinados segmentos de las regiones variables difieren en gran medida en cuanto a la secuencia entre anticuerpos. La región V media en la unión al antígeno y define la especificidad de un anticuerpo particular por su antígeno particular. No obstante, la variabilidad no se distribuye de manera uniforme en una extensión de 110 aminoácidos de las regiones variables. Por el contrario, las regiones V consisten en extensiones menos variables (p. ej., relativamente invariables) denominadas regiones marco (FR) de alrededor de 15-30 aminoácidos separadas por regiones más cortas de mayor variabilidad (p. ej., variabilidad extrema) denominadas «regiones hipervariables», cada una con 9-12 aminoácidos de longitud. Las regiones variables de cadena pesada y ligera comprenden cuatro regiones FR, y adoptan en gran medida una configuración de lámina β conectada mediante tres regiones hipervariables que forman bucles que conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de lámina β . Las regiones hipervariables de cada cadena se mantienen juntas en proximidad mediante las FR y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos (ver, p. ej., Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest (5.^a ed. 1991)). Las regiones constantes no participan directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, pero presentan diversas funciones efectoras, como la participación del anticuerpo en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, por sus siglas en inglés) y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC, por sus siglas en inglés). Las regiones variables difieren ampliamente en secuencia entre diferentes anticuerpos. En modalidades específicas, la región variable es una región variable humana.

[00100] La expresión «numeración de residuos de dominio variable según Kabat» o «numeración de posición de aminoácidos según Kabat», y variaciones de estas, hacen referencia al sistema de numeración utilizado para las regiones variables de cadena pesada o las regiones variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos en Kabat *et al.*, mencionado anteriormente. Al usar este sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales que corresponden a un acortamiento o una inserción de una FR o una CDR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir una inserción de un único aminoácido (residuo 52a, según Kabat) luego del residuo 52 y tres residuos insertados (p. ej.,

residuos 82a, 82b y 82c, etc., según Kabat) luego del residuo 82. Es posible determinar la numeración de residuos de Kabat para un anticuerpo determinado mediante el alineamiento en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia con numeración de Kabat «estándar». El sistema de numeración de Kabat se utiliza generalmente cuando se hace referencia a un residuo del dominio variable (aproximadamente los residuos 1-107 de la cadena ligera y los residuos 1-113 de la cadena pesada) (p. ej., Kabat *et al.*, mencionado anteriormente). El «sistema de numeración EU» o «índice EU» se usa generalmente cuando se hace referencia a un residuo en una región constante de cadena pesada de inmunoglobulina (p. ej., el índice EU indicado en Kabat *et al.*, mencionado anteriormente). El «índice EU según Kabat» se refiere a la enumeración de residuos del anticuerpo de IgG1 humana según EU. Por ejemplo, AbM, Chothia, Contact, IMGT y AHon han descrito otros sistemas de numeración.

[00101] La expresión «cadena pesada», cuando se utiliza en referencia a un anticuerpo, hace referencia a una cadena polipeptídica de alrededor de 50-70 kDa, en donde la parte del extremo amino incluye una región variable de alrededor de 120 a 130 o más aminoácidos y una parte de extremo carboxi incluye una región constante. La región constante puede ser uno de cinco tipos distintos (p. ej., isotipos) a los que se hace referencia como alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gamma (γ) y mu (μ), en función de la secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada. Las distintas cadenas pesadas difieren en tamaño: α , δ y γ contienen aproximadamente 450 aminoácidos, mientras que μ y ϵ contienen aproximadamente 550 aminoácidos. Cuando se combinan con una cadena ligera, estos tipos distintos de cadenas pesadas originan cinco clases conocidas (p. ej., isotipos) de anticuerpos, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, respectivamente, que incluyen cuatro subclases de IgG, principalmente IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

[00102] La expresión «cadena ligera», cuando se utiliza en referencia a un anticuerpo, hace referencia a una cadena polipeptídica de alrededor de 25 kDa, en donde la parte de extremo amino incluye una región variable de alrededor de 100 a alrededor de 110 o más aminoácidos y una parte de extremo carboxi incluye una región constante. La longitud aproximada de una cadena ligera es de 211 a 217 aminoácidos. Existen dos tipos distintos, a los que se hace referencia como kappa (κ) o lambda (λ), en función de la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes.

[00103] Como se usa en la presente, los términos «región hipervariable», «HVR», «región determinante de la complementariedad» y «CDR» se usan indistintamente. Una «CDR» hace referencia a una de tres regiones hipervariables (H1, H2 o H3) dentro de la región distinta a la de marco del marco de la lámina β de VH de la inmunoglobulina (Ig o anticuerpo) o una de tres regiones hipervariables (L1, L2 o L3) dentro de la región distinta a la de marco del marco de la lámina β de VL del anticuerpo. CDR1, CDR2 y CDR3 en el dominio VH también se denominan HCDR1, HCDR2 y HCDR3, respectivamente. CDR1, CDR2 y CDR3 en el dominio VL también se denominan LCDR1, LCDR2 y LCDR3,

respectivamente. Por consiguiente, las CDR son secuencias de región variable intercaladas dentro de las secuencias de región marco.

[00104] Las regiones CDR son conocidas por los expertos en la técnica y se han definido mediante sistemas de numeración ampliamente conocidos. Por ejemplo, las regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de Kabat se basan en la variabilidad de la secuencia y son las más utilizadas (véase, p. ej., Kabat *et al.*, mencionado anteriormente; Nick Deschacht *et al.*, J Immunol 2010; 184:5696-5704). Chothia, en cambio, hace referencia a la ubicación de los bucles estructurales (ver, p. ej., Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-17 (1987)). El extremo del bucle CDR-H1 de Chothia, cuando se enumera usando la convención de numeración de Kabat, varía entre H32 y H34 en función de la longitud del bucle (esto se debe a que el esquema de numeración de Kabat ubica las inserciones en H35A y H35B; si 35A y 35B no están presentes, el bucle finaliza en 32; si solo 35A está presente, el bucle termina en 33; si tanto 35A como 35B están presentes, el bucle termina en 34). Las regiones hipervariables de AbM representan un compromiso entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular (véase, p. ej., Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann y Dübel eds., 2.^a ed. 2010)). Las regiones hipervariables «de contacto» se basan en un análisis de las estructuras cristalinas complejas disponibles. Otro sistema de numeración universal que se elaboró y se adoptó ampliamente es ImMunoGeneTics (IMGT) Information System® (Lafranc *et al.*, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003)). IMGT es un sistema de información integrada que se especializa en inmunoglobulinas (IG), receptores de linfocitos T (TCR, por sus siglas en inglés) y complejo principal de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) de seres humanos y otros vertebrados. En la presente, se hace referencia a las CDR como la secuencia de aminoácidos y la ubicación dentro de la cadena ligera o pesada. Dado que la «ubicación» de las CDR dentro de la estructura del dominio variable de inmunoglobulina se conserva entre especies y está presente en estructuras denominadas bucles, mediante el uso de sistemas de numeración que alinean secuencias de dominio variable según las características estructurales, los residuos de CDR y de marco pueden identificarse fácilmente. Esta información puede usarse en el injerto y sustitución de residuos de CDR a partir de inmunoglobulinas de una especie en un marco aceptor de, típicamente, un anticuerpo humano. Otro sistema de numeración (AHon) fue desarrollado por Honegger y Plückthun, J. Mol. Biol. 309: 657-70 (2001). La correspondencia entre el sistema de numeración, que incluye, por ejemplo, la numeración de Kabat y el sistema de numeración único IMGT, es ampliamente conocida por los expertos en la técnica (véase, p. ej., Kabat, mencionado anteriormente; Chothia y Lesk, mencionado anteriormente; Martin, mencionado anteriormente; Lefranc *et al.*, mencionado anteriormente). Los residuos de cada una de estas regiones hipervariables o CDR se ejemplifican en la tabla a continuación.

CDR ilustrativas según varios sistemas de numeración

Bucle	Kabat	AbM	Chothia	Contact	IMGT
CDR L1	L24--L34	L24--L34	L26--L32 o L24--L34	L30--L36	L27--L38
CDR L2	L50--L56	L50--L56	L50--L52 o L50--L56	L46--L55	L56--L65
CDR L3	L89--L97	L89--L97	L91--L96 o L89--L97	L89--L96	L105-L117
CDR H1	H31--H35B (Numeración de Kabat)	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B	H27--H38
CDR H1	H31--H35 (Numeración de Chothia)	H26--H35	H26--H32	H30--H35	
CDR H2	H50--H65	H50--H58	H53--H55 o H52--H56	H47--H58	H56--H65
CDR H3	H95--H102	H95--H102	H96--H101 o H95--H102	H93--H101	H105-H117

[00105] Los límites de una determinada CDR pueden variar según el esquema utilizado para la identificación. Por lo tanto, a menos que se especifique lo contrario, los términos «CDR» y «región determinante de la complementariedad» de un anticuerpo dado o región de este, como una región variable, así como CDR individuales (p.ej., CDR-H1, CDR-H2) del anticuerpo o una región de este, debe entenderse que abarca la región determinante de la complementariedad definida según cualquiera de los esquemas conocidos descritos anteriormente en la presente. En algunos casos, se especifica el esquema para la identificación de una CDR o varias CDR en particular, como la CDR definida según el método IMGT, Kabat, Chothia o de Contact. En otros casos, se proporciona la secuencia particular de aminoácidos de una CDR. Cabe señalar que las regiones CDR también pueden definirse mediante una combinación de varios sistemas de numeración, p. ej., una combinación de los sistemas de numeración de Kabat y de Chothia, o una combinación de los sistemas de numeración de Kabat y de IMGT. Por lo tanto, el término tal como «una CDR1 como se establece en una VH específica» incluye cualquier CDR1 como se define por los sistemas de numeración de CDR de ejemplo descritos anteriormente, pero no está limitado por ello. Una vez que se proporciona una región variable (p. ej., una VH o VL), los expertos en la técnica entenderán que las CDR dentro de la región pueden definirse mediante diferentes sistemas de numeración o combinaciones de estos.

[00106] Las regiones hipervariables pueden comprender «regiones hipervariables extendidas» de la

siguiente manera: 24-36 o 24-34 (L1), 46-56 o 50-56 (L2), y 89-97 o 89-96 (L3) en la VL, y 26-35 o 26-35A (H1), 50-65 o 49-65 (H2), y 93-102, 94-102 o 95-102 (H3) en la VH.

[00107] La expresión «región constante» o «dominio constante» hace referencia a una parte de extremo carboxi de la cadena ligera y pesada que no participa directamente en la unión del anticuerpo al antígeno, pero exhibe diversas funciones efectoras, tales como la interacción con el receptor para el Fc. La expresión hace referencia a la porción de una molécula de inmunoglobulina que presenta una secuencia de aminoácidos más conservada con respecto a la otra parte de la inmunoglobulina, la región variable, que contiene el sitio de unión al antígeno. La región constante puede contener las regiones CH1, CH2 y CH3 de la cadena pesada y la región CL de la cadena ligera.

[00108] El término «marco» o «FR» hace referencia a aquellos residuos de región variable que flanquean las CDR. Los residuos de FR están presentes, por ejemplo, en anticuerpos de dominio quiméricos, humanizados, humanos, diacuerpos, anticuerpos lineales y anticuerpos biespecíficos. Los residuos de FR son aquellos residuos de dominio variable distintos a los residuos de región hipervariable o CDR.

[00109] El término «región Fc» en la presente se usa para definir una región de extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina, que incluye, por ejemplo, regiones Fc de secuencia nativa, regiones Fc recombinantes y regiones Fc variantes. A pesar de que los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, la región Fc de cadena pesada de IgG humana se define a menudo para abarcar desde un residuo de aminoácido en la posición Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo de esta. La lisina de extremo C (residuo 447 de acuerdo con el sistema de numeración de EU) de la región Fc puede eliminarse, por ejemplo, durante la producción o purificación del anticuerpo, o mediante modificación recombinante del ácido nucleico que codifica una cadena pesada del anticuerpo. Por consiguiente, una composición de anticuerpos intactos puede comprender poblaciones de anticuerpos a los que se eliminaron todos los residuos K447, poblaciones de anticuerpos sin ninguna eliminación de residuos K447 y poblaciones de anticuerpos que tienen una mezcla de anticuerpos con el residuo K447 y sin este. Una «región Fc funcional» posee una «función efectora» de una región Fc de secuencia nativa. Los ejemplos de «funciones efectoras» incluyen unión a C1q; CDC; unión al receptor para el Fc; ADCC; fagocitosis; regulación a la baja de receptores de la superficie celular (p. ej., receptor de los linfocitos B), etc. Dichas funciones efectoras generalmente requieren que la región Fc se combine con una región de unión o dominio de unión (p.ej., una región o dominio variable de anticuerpo) y pueden evaluarse usando varios ensayos conocidos por los expertos en la técnica. Una «región Fc variante» comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la de una región Fc de secuencia natural en virtud de al menos una modificación de aminoácidos (p. ej., sustitución, adición o delección). En determinadas modalidades, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácido en

comparación con una región Fc de secuencia natural o con la región Fc de un polipéptido original, por ejemplo, de alrededor de una a alrededor de diez sustituciones de aminoácidos o de alrededor de una a alrededor de cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia natural o en la región Fc de un polipéptido original. La región Fc variante en la presente puede tener al menos alrededor del 80 % de homología con una región Fc de secuencia natural y/o con una región Fc de polipéptido original o al menos alrededor del 90 % de homología con estas, por ejemplo, al menos alrededor del 95 % de homología con estas.

[00110] El término «fragmento de anticuerpo», tal como se usa en la presente, se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto, que comprende una parte de un anticuerpo y generalmente un sitio de unión al antígeno. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, entre otros, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, moléculas de anticuerpo monocaténario, scFv, sc(Fv)₂, scFv unido por disulfuro (dsscFv), diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos de dominio variable doble (DVD), anticuerpos de dominio variable único (p. ej., anticuerpos de camélido) y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpo de unión al antígeno.

[00111] El término «anticuerpo monoclonal», tal como se usa en la presente, se refiere a una población de anticuerpos sustancialmente homogénea que participa en el reconocimiento altamente específico y la unión de un epítipo o determinante antigénico único. El término «anticuerpo monoclonal» abarca anticuerpos intactos y de longitud completa, así como fragmentos de anticuerpos (p. ej., Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), anticuerpos monocatenarios, scFv, proteínas de fusión que comprenden un fragmento de anticuerpo de unión al antígeno, y cualquier otra molécula de inmunoglobulina modificada que comprende al menos un sitio de unión al antígeno. Además, «anticuerpo monoclonal» se refiere a dichos anticuerpos producidos por una serie de técnicas, incluidas, entre otras, la producción de hibridomas, genotecas de expresión en fagos, la expresión recombinante y los animales transgénicos.

[00112] Los términos «epítipo» y «determinante antigénico» se usan de forma indistinta en la presente y se refieren a la parte de un antígeno o diana capaz de ser reconocida por un anticuerpo particular, y de unirse a este. Cuando el antígeno o la diana es un polipéptido, los epítopos se pueden formar tanto a partir de aminoácidos contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos por plegamiento terciario de la proteína. Los epítopos formados a partir de aminoácidos contiguos (también denominados epítopos lineales) normalmente se retienen tras la desnaturalización de la proteína, mientras que los epítopos formados por plegamiento terciario (también denominados epítopos conformacionales) normalmente se pierden tras la desnaturalización de la proteína. Un epítipo normalmente incluye al menos 3, y más normalmente, al menos 5, 6, 7 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única. Los epítopos pueden predecirse mediante el uso de cualquiera de una gran cantidad de herramientas de software bioinformáticas disponibles públicamente. La cristalografía

de rayos X se puede utilizar para caracterizar un epítipo en una proteína diana mediante el análisis de las interacciones de residuos de aminoácidos de un complejo de antígeno y anticuerpo.

[00113] El término «anticuerpo quimérico» se refiere a un anticuerpo en el cual una parte de la cadena pesada y/o ligera deriva de una primera fuente o especie, mientras que el resto de la cadena pesada y/o ligera deriva de una fuente o especie diferente.

[00114] El término «anticuerpo humanizado», tal como se usa en la presente, hace referencia a un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada humana y una región variable de cadena ligera, en donde los residuos de aminoácidos de CDR naturales se reemplazan con residuos de CDR correspondientes de un anticuerpo no humano (p. ej., ratón, rata, conejo o primate no humano), en donde el anticuerpo no humano tiene la especificidad, afinidad, y/o actividad deseadas. En algunas modalidades, uno o más residuos de aminoácidos de la región marco de las regiones variables de cadena pesada o cadena ligera humanas se reemplazan con los residuos correspondientes del anticuerpo no humano. Además, los anticuerpos humanizados pueden comprender residuos de aminoácidos que no se encuentran en el anticuerpo humano o en el anticuerpo no humano. En algunas modalidades, estas modificaciones se realizan para refinar aún más y/o optimizar las características de los anticuerpos. En algunas modalidades, el anticuerpo humanizado comprende al menos una parte de una región constante de inmunoglobulina humana (p. ej., CH1, CH2, CH3, Fc, y/o región bisagra).

[00115] El término «anticuerpo humano», tal como se usa en la presente, se refiere a un anticuerpo que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde a un anticuerpo producido por un ser humano y/o un anticuerpo que se ha preparado mediante el uso de cualquiera de las técnicas conocidas por los expertos en la técnica para producir anticuerpos humanos. Estas técnicas incluyen, entre otras, genotecas de expresión en fagos, genotecas de expresión en levaduras, animales transgénicos, producción de proteínas recombinantes y tecnología de hibridomas de linfocitos B.

[00116] El término «se une específicamente», tal como se usa en la presente, hace referencia a un agente que interactúa con mayor frecuencia, más rápidamente, con mayor duración, con mayor afinidad o con alguna combinación de los anteriores con respecto a un antígeno, epítipo, proteína o molécula diana particulares, que con sustancias alternativas. Los términos «se une específicamente» y «se une» se utilizan indistintamente en algunas modalidades. Un agente de unión que se une específicamente a un antígeno puede identificarse, por ejemplo, mediante inmunoanálisis, ELISA, resonancia de plasmones superficiales (SPR, por su sigla en inglés), u otras técnicas conocidas por los expertos en la técnica. En algunas modalidades, un agente que se une específicamente a un antígeno (p. ej., ILT3 o CD3 humanos) puede unirse a antígenos relacionados (p. ej., ILT3 o CD3 de macaco cangrejero). Generalmente, un agente de unión que se une específicamente a un antígeno se unirá al antígeno diana con una afinidad mayor que su afinidad por un antígeno diferente. El antígeno diferente puede ser un

antígeno relacionado. En algunas modalidades, un agente de unión que se une específicamente a un antígeno puede unirse al antígeno diana con una afinidad al menos 20 veces mayor, al menos 30 veces mayor, al menos 40 veces mayor, al menos 50 veces mayor, al menos 60 veces mayor, al menos 70 veces mayor, al menos 80 veces mayor, al menos 90 veces mayor, o al menos 100 veces mayor, que su afinidad por un antígeno diferente. En algunas modalidades, un agente de unión que se une específicamente a un antígeno particular se une a un antígeno diferente con una afinidad tan baja que la unión no se puede detectar utilizando un ensayo descrito en el presente documento o conocido en la técnica. En algunas modalidades, la afinidad se mide usando tecnología SPR en un sistema Biacore como se describe en este documento o como conocen los expertos en la técnica.

10 **[00117]** Los términos «polipéptido», «péptido» y «proteína» se usan de forma indistinta en la presente y se refieren a polímeros de aminoácidos de cualquier longitud. El polímero puede ser lineal o ramificado, puede comprender aminoácidos modificados y puede ser interrumpido por no aminoácidos. Los términos también comprenden un polímero de aminoácidos que ha sido modificado naturalmente o mediante intervención; por ejemplo, formación de puentes disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación. También se incluyen dentro de la definición, por ejemplo, polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido, incluidos, entre otros, aminoácidos no naturales, así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se entiende que, debido a que los polipéptidos de esta descripción pueden basarse en anticuerpos, el término «polipéptido» abarca polipéptidos monocatenarios y polipéptidos de dos o más cadenas asociadas.

20 **[00118]** Los términos «polinucleótido», «ácido nucleico» y «molécula de ácido nucleico» se usan de forma indistinta en la presente y se refieren a polímeros de nucleótidos de cualquier longitud, e incluyen ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, bases o nucleótidos modificados y/o sus análogos, o cualquier sustrato que se pueda incorporar a un polímero mediante ADN o ARN polimerasa.

25 **[00119]** Los términos «idéntico» o porcentaje de «identidad», en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o polipéptidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje específico de nucleótidos o residuos de aminoácidos que son iguales, cuando se comparan y se alinean (introduciendo espacios, si es necesario) para obtener una correspondencia máxima, sin considerar ninguna sustitución conservadora de aminoácidos como parte de la identidad de secuencia. El porcentaje de identidad puede medirse utilizando software o algoritmos de comparación de secuencias o mediante inspección visual. Varios algoritmos y software que pueden usarse para obtener alineaciones de secuencias de aminoácidos o nucleótidos son conocidos en la técnica. Estos incluyen, entre otros, BLAST, ALIGN, Megalign, BestFit, GCG Wisconsin Package y variantes de estos. En algunas modalidades, dos ácidos nucleicos o polipéptidos de la divulgación son sustancialmente

idénticos, lo que significa que tienen al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 % y, en algunas modalidades, al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % de identidad de nucleótidos o de aminoácidos cuando se comparan y se alinean para una máxima correspondencia, tal como se miden mediante el uso de un algoritmo de comparación de secuencias o mediante inspección visual. En algunas modalidades, existe identidad en una región de las secuencias que tiene al menos 5 alrededor de 10, al menos alrededor de 20, al menos alrededor de 20-40, al menos alrededor de 40-60, al menos alrededor de 60-80 nucleótidos o aminoácidos de longitud, o cualquier valor entero intermedio. En algunas modalidades, existe identidad en una región de longitud mayor a 60-80 nucleótidos o aminoácidos, tal como de al menos alrededor de 80-100 nucleótidos o aminoácidos y, en algunas 10 modalidades, las secuencias son sustancialmente idénticas en toda la longitud de las secuencias que se comparan, por ejemplo, (i) la región codificante de una secuencia de nucleótidos o (ii) una secuencia de aminoácidos.

[00120] El término «vector», tal como se usa en la presente, hace referencia a una construcción que es capaz de administrar y, usualmente, expresar, uno o más genes o secuencias de interés en una célula 15 hospedadora. Los ejemplos de vectores incluyen, de modo no taxativo, vectores virales, vectores de expresión de ARN o ADN libre, vectores de plásmidos, cósmidos o fagos, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónicos y vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas.

[00121] El término «aislado», como se usa en la presente, se refiere a un polipéptido, proteína soluble, anticuerpo, polinucleótido, vector, célula o composición que está en una forma que no se encuentra en 20 la naturaleza. Un anticuerpo «aislado» está sustancialmente libre de material de la fuente celular de la que deriva. En algunas modalidades, los polipéptidos aislados, las proteínas solubles, los anticuerpos, los polinucleótidos, los vectores, las células o las composiciones son aquellos que se han purificado hasta el punto de que ya no se encuentran en la forma en que se encuentran en la naturaleza. En 25 algunas modalidades, un polipéptido, una proteína soluble, un anticuerpo, un polinucleótido, un vector, una célula o una composición que se aísla es sustancialmente puro. Un polipéptido, una proteína soluble, un anticuerpo, un polinucleótido, un vector, una célula o una composición pueden aislarse de una fuente natural (p. ej., tejido) o de una fuente como una línea celular genomodificada.

[00122] El término «sustancialmente puro», tal como se usa en la presente, hace referencia a un 30 material que es al menos 50 % puro (es decir, libre de contaminantes), al menos 90 % puro, al menos 95 % puro, al menos 98 % o al menos 99 % puro.

[00123] El término «sujeto» se refiere a cualquier animal (p. ej., un mamífero), que incluye, de modo no taxativo, seres humanos, primates no humanos, caninos, felinos, conejos, roedores y similares.

[00124] Tal como se utiliza en la presente, en general, el término «portador» se refiere a cualquier

excipiente, diluyente, relleno, sal, amortiguador, estabilizador, solubilizante, aceite, lípido, vesícula que contiene lípido, microesfera, encapsulación liposómica u otro material conocido en la técnica para uso en formulaciones farmacéuticas. Se entenderá que las características del portador, excipiente o diluyente dependerán de la vía de administración para una aplicación particular. El término

5 «farmacéuticamente aceptable», como se usa en este documento, se refiere a una sustancia aprobada o aprobable por una agencia reguladora o incluida en la Farmacopea de EE. UU., la Farmacopea europea u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, incluidos los humanos.

[00125] Los términos «excipiente, portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable» o «portador farmacéutico aceptable», tal como se usan en la presente, hacen referencia a un excipiente, portador o

10 adyuvante que puede administrarse a un sujeto junto con al menos un agente terapéutico, que es generalmente seguro, no tóxico y no tiene ningún efecto sobre la actividad farmacológica del agente terapéutico. En general, los expertos en la técnica y los organismos gubernamentales consideran que un excipiente, portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable es un ingrediente inactivo de cualquier formulación o cualquier composición farmacéutica.

15 **[00126]** El término «composición farmacéutica» o «formulación farmacéutica», tal como se usa en la presente, hace referencia a una preparación que está en una forma tal que permite que la actividad biológica del agente de unión sea eficaz. Una formulación o composición farmacéutica generalmente comprende componentes adicionales, tales como un excipiente, vehículo, adyuvante, amortiguadores, etc., farmacéuticamente aceptables.

20 **[00127]** El término «cantidad eficaz» o «cantidad terapéuticamente eficaz», tal como se usa en la presente, hace referencia a la cantidad de un agente que es suficiente para reducir y/o mejorar la gravedad y/o duración de (i) una enfermedad, un trastorno o una afección en un sujeto, y/o (ii) un síntoma en un sujeto. El término también comprende una cantidad de un agente necesaria para (i) la reducción o mejora del avance o la evolución de una enfermedad, un trastorno o una afección determinados, (ii) la

25 reducción o mejora de la recurrencia, el desarrollo o el inicio de una enfermedad, un trastorno o una afección determinados, y/o (iii) la mejora o potenciación de uno o más efectos profilácticos o terapéuticos de otro agente o terapia (p. ej., un agente distinto a los agentes de unión proporcionados en la presente).

[00128] Los términos tales como «tratar», «tratamiento», «que trata», «para tratar», «aliviar», «alivio», «que alivia» o «para aliviar», tal como se usan en la presente, hacen referencia a medidas terapéuticas

30 que intentan curar, ralentizar, reducir los síntomas, y/o detener la evolución de una afección o un proceso patológico. Por lo tanto, aquellos que precisan un tratamiento incluyen quienes ya fueron diagnosticados con el trastorno.

[00129] El término «respuesta inmunitaria», tal como se usa en la presente, incluye respuestas tanto del sistema inmunitario innato como del sistema inmunitario adaptativo. Incluye las respuestas

inmunitarias mediadas por células y/o humores. Incluye las respuestas de linfocitos T y linfocitos B, así como las respuestas de otras células del sistema inmunitario tales como linfocitos citolíticos naturales (NK), monocitos, macrófagos, células dendríticas, etc.

[00130] Tal como se usan en la presente, las referencias a «alrededor de» o «aproximadamente» un valor o parámetro incluyen (y describen) modalidades que se refieren a ese valor o parámetro. Por ejemplo, una descripción que hace referencia a «alrededor de X» incluye la descripción de «X».

[00131] Tal como se usa en la presente divulgación y reivindicaciones, las formas singulares «un», «una» y «el/la» incluyen las formas plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

[00132] Se entiende que cuando se describan las modalidades en la presente con el término «comprende» también se proporcionan las modalidades análogas descritas en términos de «consiste en» y/o «consiste esencialmente en». También se entiende que siempre que se describan modalidades en la presente mediante la expresión «que consiste/n esencialmente en», también se proporcionan otras modalidades análogas descritas mediante el uso del término «que consiste/n en».

[00133] El término «y/o», tal como se usa en una frase tal como «A y/o B» en la presente pretende incluir: tanto A como B, A o B, A (solo) y B (solo). Asimismo, el término «y/o», como se usa en una frase como «A, B y/o C», pretende abarcar cada una de las siguientes modalidades: A, B y C; A, B o C; A o C; A o B; B o C; A y C; A y B; B y C; A (solo); B (solo); y C (solo).

5.1 Regiones de unión a ILT3

[00134] Los agentes de unión proporcionados en este documento comprenden una región que se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) y, por lo tanto, los agentes de unión presentes son agentes de unión a ILT3.

[00135] Las secuencias de aminoácidos (aa) para ILT3 humano (UniProtKB n.º Q8NHJ6) e ILT3 de macacos cangrejeros («cyno») (NCBI n.º de ref. XP_015297198) son conocidas. ILT3 es una proteína transmembranaria tipo I de paso único con un peso molecular previsto de aproximadamente 47 kDa. Se ha observado que ILT3 se expresa predominantemente en células presentadoras de antígenos mieloides, como monocitos normales, macrófagos y células dendríticas. ILT3 se caracteriza por un dominio extracelular que comprende dos dominios de tipo C2 similares a Ig, un dominio transmembranario y un dominio citoplásmico largo que contiene 3 dominios ITIM (ver, p. ej., Cella *et al.*, 1997, *J. Exp. Med.*, 185:1743-1751). Los dos dominios de tipo C2 similares a Ig pueden denominarse en la presente como Dominio 1 (D1) y Dominio 2 (D2). D1 está situado en la parte de extremo N de la proteína y D2 está situado más cerca de la región transmembranaria. Tal como se caracteriza en UniProtKB, ILT3 humano es una proteína de 448 aminoácidos (aa) - la secuencia señal es aa 1-21, el dominio extracelular es aa 22-259, la región transmembranaria es aa 260-280 y el dominio citoplásmico es aa 281-448. Dentro del dominio extracelular, D1 es aa 27-188, D2 es aa 124-218 y la «región del tallo» es aa 219-259. Dentro del dominio citoplásmico, los ITIM son los aa 358-363, 410-415 y 440-445.

[00136] La presente divulgación proporciona agentes (p. ej., anticuerpos biespecíficos) que se unen a ILT3. En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 se une a ILT3 humano o un fragmento de este.

[00137] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 en el presente agente de unión es un anticuerpo o un dominio de unión derivado de un anticuerpo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo recombinante. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humano. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG2. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG3. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG2. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera kappa. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera kappa. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera lambda. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera lambda. En algunas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo que comprende un sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, el anticuerpo es un scFv. En algunas modalidades, el anticuerpo es un scFv unido por disulfuro. En algunas modalidades, el anticuerpo es un sc(Fv)₂ unido por disulfuro. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo Fab, Fab', o F(ab)₂. En algunas modalidades, el anticuerpo es un Fab monocatenario (scFab). En algunas modalidades, el anticuerpo es un diacuerpo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un nanocuerpo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monovalente. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo multivalente. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo bivalente. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo tetravalente.

[00138] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 deriva de un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar mediante cualquier método conocido por los expertos en la técnica. En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales se preparan usando métodos de hibridoma conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, utilizando un método de hibridoma, se inmuniza un ratón, rata, conejo, hámster u otro animal hospedador apropiado como se describe anteriormente. En algunas modalidades, los linfocitos se inmunizan *in vitro*. En algunas modalidades, el

antígeno inmunizante es una proteína humana o un fragmento de esta. En algunas modalidades, el antígeno inmunizante es una proteína de ratón o un fragmento de esta. En algunas modalidades, el antígeno inmunizante es una proteína de cyno o un fragmento de esta.

5 [00139] Después de la inmunización, los linfocitos se aíslan y se fusionan con una línea de células de mieloma adecuada utilizando, por ejemplo, polietilenglicol. Las células de hibridoma se seleccionan utilizando medios especializados como se conoce en la técnica y los linfocitos no fusionados y las células de mieloma no sobreviven al proceso de selección. Los hibridomas que producen anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra un antígeno elegido pueden identificarse mediante una variedad de métodos que incluyen, entre otros, inmunoprecipitación, inmunotransferencia y ensayos de unión *in vitro* (p. ej., citometría de flujo, FACS, ELISA, SPR (p. ej., Biacore) y radioinmunoanálisis). Una vez que se identifican las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad deseadas, los clones se pueden subclonar por técnicas de dilución límite. En algunas modalidades, se usan métodos de alto rendimiento para distribuir células de hibridoma de una sola célula en placas. Los hibridomas se pueden propagar en cultivo *in vitro* utilizando métodos estándar o *in vivo* como tumores de ascitis en un animal. Los anticuerpos monoclonales se pueden purificar del medio de cultivo o líquido ascítico de acuerdo con métodos estándar en la técnica que incluyen, entre otros, cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, electroforesis en gel y diálisis.

10

15

[00140] En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales se fabrican usando técnicas de ADN recombinante como es conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, los polinucleótidos que codifican un anticuerpo se aíslan de linfocitos B maduros o células de hibridoma, como por RT-PCR utilizando cebadores de oligonucleótidos que amplifican específicamente los genes que codifican las cadenas pesada y ligera del anticuerpo, y se determina su secuencia utilizando técnicas estándar. Los polinucleótidos aislados que codifican las cadenas pesada y ligera se clonan luego en vectores de expresión adecuados que producen los anticuerpos monoclonales al transfectarse en células hospedadoras tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de ovario de hámster chino (CHO, por su sigla en inglés) o células de mieloma que no producen de otra forma proteínas de inmunoglobulina.

20

25

[00141] En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales recombinantes se aíslan de genotecas de expresión en fagos que expresan dominios variables o CDR de una especie deseada. La selección de genotecas de expresión en fagos se puede realizar mediante diversas técnicas conocidas en la técnica.

30

[00142] En algunas modalidades, un anticuerpo monoclonal se modifica usando tecnología de ADN recombinante para generar anticuerpos alternativos. En algunas modalidades, los dominios constantes de la cadena ligera y la cadena pesada de un anticuerpo monoclonal de ratón se sustituyen por regiones

constantes de un anticuerpo humano para generar un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, las regiones constantes se truncan o eliminan para generar un fragmento de anticuerpo deseado de un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, se usa mutagénesis dirigida al sitio o de alta densidad de la(s) región(es) variable(s) para optimizar la especificidad y la afinidad de un anticuerpo monoclonal.

5 **[00143]** En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 deriva de un anticuerpo humanizado. En la técnica se conocen varios métodos para generar anticuerpos humanizados. En algunas modalidades, un anticuerpo humanizado comprende uno o más residuos de aminoácidos que se han introducido en él desde una fuente que no es humana. En algunas modalidades, la humanización se realiza
10 substituyendo una o más secuencias de CDR no humanas por las secuencias de CDR correspondientes de un anticuerpo humano. En algunas modalidades, los anticuerpos humanizados se construyen substituyendo las seis CDR de un anticuerpo no humano (p. ej., un anticuerpo de ratón) por las CDR correspondientes de un anticuerpo humano.

[00144] La elección de qué región variable de cadena pesada humana y/o región variable de cadena ligera humana usar para generar anticuerpos humanizados se puede hacer basándose en una variedad
15 de factores y mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. En algunas modalidades, se utiliza el método de «mejor ajuste» en el que la secuencia de la región variable de un anticuerpo no humano (p. ej., roedor) se criba con respecto a la genoteca completa de secuencias de regiones variables humanas conocidas. La secuencia humana que es más similar a la de la secuencia no humana (p. ej., roedor) se selecciona como marco de la región variable humana para el anticuerpo humanizado.
20 En algunas modalidades, un marco de región variable particular derivado de una secuencia consenso de todos los anticuerpos humanos de un subgrupo particular de cadenas ligeras o pesadas se selecciona como el marco de región variable. En algunas modalidades, la secuencia marco de la región variable deriva de las secuencias consenso de las subclases humanas más abundantes. En algunas modalidades, los genes de la línea germinal humana se utilizan como fuente de las secuencias marco
25 de la región variable.

[00145] Otros métodos de humanización incluyen, de modo no taxativo, un método denominado «superhumanización» que se describe como la transferencia directa de CDR a un marco de la línea germinal humana, un método denominado Human String Content (HSC) que se basa en una métrica de
30 «humanidad de los anticuerpos», métodos basados en la generación de grandes genotecas de variantes humanizadas (que incluyen genotecas de expresión en fagos, ribosomas y levaduras), y métodos basados en la transposición de la región marco.

[00146] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 deriva de un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos se pueden preparar utilizando diversas técnicas conocidas en la técnica. En algunas modalidades, los anticuerpos humanos se generan a partir de linfocitos B humanos

inmortalizados inmunizados *in vitro*. En algunas modalidades, los anticuerpos humanos se generan a partir de linfocitos aislados de un individuo inmunizado. En cualquier caso, las células que producen un anticuerpo dirigido contra un antígeno diana pueden generarse y aislarse. En algunas modalidades, un anticuerpo humano se selecciona de una genoteca de expresión en fagos, donde esa genoteca de expresión en fagos expresa anticuerpos humanos. Alternativamente, la tecnología de expresión en fagos se puede usar para producir anticuerpos humanos y fragmentos de anticuerpos *in vitro*, a partir de repertorios de genes de región variable de inmunoglobulina de donantes humanos no inmunizados. Las técnicas para la generación y el uso de las genotecas de expresión en fagos de anticuerpos son conocidas en la técnica. Una vez que se identifican los anticuerpos, se pueden emplear estrategias de maduración por afinidad conocidas en la técnica, que incluyen, entre otras, la transposición de cadenas y la mutagénesis dirigida al sitio, para generar anticuerpos humanos de mayor afinidad. En algunas modalidades, los anticuerpos humanos se producen en ratones transgénicos que contienen locus de inmunoglobulina humana. Tras la inmunización, estos ratones son capaces de producir un repertorio completo de anticuerpos humanos en ausencia de producción de inmunoglobulina endógena.

[00147] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 es un fragmento de anticuerpo. Tal como se usa en la presente, el término «fragmento de anticuerpo» hace referencia a una molécula distinta a un anticuerpo intacto que comprende una parte de un anticuerpo y, generalmente, un sitio de unión al antígeno. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, de modo no taxativo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, moléculas de anticuerpos monocatenarios (p. ej., scFv), scFv unidos por disulfuro (dsscFv), nanocuerpos, diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos de dominio variable doble (DVD), anticuerpos de dominio variable único (p. ej., anticuerpos de camélidos), y anticuerpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticuerpos.

[00148] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 comprende un scFv que se une a ILT3. En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 comprende uno o más Fab que se unen a ILT3. En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 comprende un Fab. En otras modalidades específicas, la región de unión a ILT3 comprende dos Fab. En otras modalidades específicas, la región de unión a ILT3 comprende dos Fab en tándem.

[00149] Los fragmentos de anticuerpos pueden elaborarse mediante varias técnicas, que incluyen, de modo no taxativo, la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto. Los fragmentos de anticuerpos descritos en el presente documento se pueden producir utilizando tecnologías recombinantes conocidas en la técnica (p. ej., *E.coli* o expresión en fagos).

[00150] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación (K_D) de $\leq 1 \mu M$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (p. ej. 10^{-8} M o menos, p. ej., de 10^{-8} M a

10^{-13} M, p. ej., de 10^{-9} M a 10^{-13} M). En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación de $\leq 0,1$ nM. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación de $\leq 0,2$ nM.

5 En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación de $\leq 0,3$ nM. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación de $\leq 0,8$ nM. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación de ≤ 3 nM. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 que se proporciona en el presente documento se une a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) con una constante de disociación de ≤ 9 nM. Se conoce en la técnica una variedad de métodos para medir la afinidad de unión, cualquiera de los cuales puede usarse para los fines de la presente divulgación, incluido RIA, por ejemplo, realizado con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81); por interferometría de biocapas (BLI, por su sigla en inglés) o ensayos de resonancia de plasmones superficiales (SPR) por Octet®, usando, por ejemplo, un sistema Octet®Red96, o por Biacore®, usando, por ejemplo, un Biacore®TM-2000 o un Biacore®TM-3000. También se puede determinar una «constante de asociación» o «velocidad de asociación» o «kon» con las mismas técnicas de interferometría de biocapa (BLI) o de resonancia de plasmones superficiales (SPR) descritas anteriormente usando, por ejemplo, el Octet®Red96, el Biacore®TM-3000 o el sistema Biacore®TM-8000.

[00151] Se puede utilizar cualquier agente de unión a ILT3 (p. ej., anticuerpos anti-ILT3) conocido en la técnica para derivar la región de unión a ILT3 divulgada en este documento. En determinadas modalidades, la región de unión a ILT3 divulgada en este documento deriva de cualquiera de los anticuerpos ILT3 divulgados en la publicación internacional n.º WO2021/183839, cuyo contenido se incorpora mediante referencia a este documento. Por ejemplo, la región de unión a ILT3 divulgada en este documento deriva de H7K3 o sus variantes divulgadas en WO2021/183839. En determinadas modalidades, la variante H7K3 comprende una variante VH seleccionada del grupo que consiste en H7m1, H7m2, H7m3 y H7m4, y/o comprende una variante VL seleccionada del grupo que consiste en K3m1, K3m2, K3m3, K3m4, K3m5, K3m6, K3m7 y K3m8 como se describe en WO2021/183839. Las secuencias de aminoácidos de CDR, VL y VH de H7K3 y sus variantes se divulgan, por ejemplo, en la Tabla 1 y el párrafo [0155] del documento WO2021/183839. En determinadas modalidades, la región de unión a ILT3 divulgada en este documento deriva de cualquier anticuerpo anti-ILT3 descrito en cualquiera de las siguientes publicaciones de patente: US20190153093, WO2020056077,

WO2021183839, US20200031926, US20210221887, US20150110714, US20200031926, US20190241655, WO2020180789 y WO2020056077, cuyos contenidos se incorporan mediante referencia a este documento.

[00152] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento deriva de un anticuerpo en la publicación internacional n.º WO 2021/127200, cuyo contenido se incorpora mediante referencia a este documento. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 es cualquiera de las Tablas 1-8.

[00153] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más secuencias de CDR de la secuencia de aminoácidos indicada en cualquiera de las SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:109, SEQ ID NO:110, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:145 y SEQ ID NO:146. Las secuencias de CDR se pueden determinar y definir de acuerdo con cualquier sistema de numeración conocido. En algunas modalidades, las CDR se determinan y definen de acuerdo con la numeración IMGT. En algunas modalidades, las CDR se determinan y definen de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas modalidades, las CDR se determinan y definen de acuerdo con la numeración de AbM. En otras modalidades, las CDR se determinan y definen de acuerdo con la numeración de Chothia. En otras modalidades, las CDR se determinan y definen de acuerdo con la numeración de Contact. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00154] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

[00155] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:37. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:38. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento

comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:37, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:38.

[00156] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:55. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:56. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:55, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:56.

[00157] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:73. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:74. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:73, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:74.

[00158] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:91. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:92. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:91, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:92.

[00159] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:109. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:110. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:109, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la

SEQ ID NO:110.

[00160] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:127. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento
5 comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:128. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:127, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:128.

[00161] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:145. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento
10 comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:146. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:145, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:146.

[00162] Las secuencias de CDR se pueden determinar de acuerdo con sistemas de numeración conocidos o una combinación de estos. En algunas modalidades, las CDR se definen de acuerdo con la
20 numeración IMGT. En algunas modalidades, las CDR se definen de acuerdo con la numeración de Kabat. En algunas modalidades, las CDR se definen de acuerdo con la numeración de AbM. En otras modalidades, las CDR se definen de acuerdo con la numeración de Chothia. En otras modalidades, las CDR se definen de acuerdo con la numeración de Contact.

[00163] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una
25 secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:1, 7, 10 y 11; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las
30 SEQ ID NO:2, 8, 9 y 12, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:3 o 13; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia

con las SEQ ID NO:4 o 14; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:5 o 15; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:6 o 16. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00164] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 1.

[00165] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:1, 7, 10 y 11; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:2, 8, 9 y 12, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:3 o 13; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:4 o 14; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:5 o 15; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:6 o 16.

[00166] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6.

[00167] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6.

[00168] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6.

[00169] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6.

[00170] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

[00171] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:21, 27, 30 y 31; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:22, 28, 29 y 32, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:23 o 33; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:24 o 34; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:25 o 35; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:26 o 36. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00172] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 2.

[00173] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:21, 27, 30 y 31; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:22, 28, 29 y 32, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:23 o 33; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:24 o 34; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:25 o 35; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:26 o 36.

[00174] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:21, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:25 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:26.

[00175] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:27, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:28, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:25 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:26.

[00176] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:21, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:29, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:25 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:26.

[00177] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:30, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:22, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:23, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:24, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:25 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:26.

[00178] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:31, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:32, la HCDR3 comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO:33, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:34, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:35 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:36.

[00179] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:39, 45, 48 y 49; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:40, 46, 47 y 50, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:41 o 51; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:42 o 52; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:43 o 53; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:44 o 54. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00180] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 3.

[00181] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:39, 45, 48 y 49; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:40, 46, 47 y 50, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:41 o 51; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:42 o 52; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:43 o 53; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:44 o 54.

[00182] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40, la HCDR3 comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO:41, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

[00183] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:45, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:46, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

[00184] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:39, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:47, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

[00185] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:40, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:41, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:42, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:43 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:44.

[00186] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:49, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:50, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:51, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:52, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:53 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:54.

[00187] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:57, 63, 66 y 67; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:58, 64, 65 y 68, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene

al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:59 o 69; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:60 o 70; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:61 o 71; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:62 o 72. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00188] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 4.

[00189] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:57, 63, 66 y 67; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:58, 64, 65 y 68, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:59 o 69; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:60 o 70; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:61 o 71; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:62 o 72.

[00190] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:57, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62.

[00191] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:63, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:64, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62.

[00192] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este

documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:57, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:65, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62.

[00193] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:66, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:58, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:59, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:60, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:61 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:62.

[00194] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:67, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:68, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:69, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:70, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:71 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:72.

[00195] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:75, 81, 84 y 85; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:76, 82, 83 y 86, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:77 o 87; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:78 o 88; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:79 o 89; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:80 o 90. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está

humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00196] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 5.

5 **[00197]** En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:75, 81, 84 y 85; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:76, 82, 83 y 86, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:77 o 87; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:78 o 10 88; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:79 o 89; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:80 o 90.

[00198] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

[00199] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:81, la HCDR2 20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:82, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

[00200] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:75, la HCDR2 25 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:83, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

30 **[00201]** En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:84, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:76, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:77, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:78, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:79 y la LCDR3 comprende

la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:80.

[00202] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:85, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:86, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:87, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:88, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:89 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:90.

[00203] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:93, 99, 102 y 103; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:94, 100, 101 y 104, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:95 o 105; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:96 o 106; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:97 o 107; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:98 o 108. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00204] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 6.

[00205] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:93, 99, 102 y 103; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:94, 100, 101 y 104, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:95 o 105; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:96 o 106; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:97 o 107; y/o (vi)

una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:98 o 108.

[00206] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:93, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:94, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:95, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:96, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:97 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:98.

[00207] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:99, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:100, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:95, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:96, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:97 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:98.

[00208] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:93, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:95, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:96, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:97 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:98.

[00209] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:102, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:94, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:95, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:96, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:97 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:98.

[00210] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:103, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:104, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:106, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:108.

[00211] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con

cualquiera de las SEQ ID NO:111, 117, 120 y 121; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:112, 118, 119 y 122, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:113 o 123; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:114 o 124; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:115 o 125; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:116 o 126. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00212] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 7.

[00213] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:111, 117, 120 y 121; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:112, 118, 119 y 122, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:113 o 123; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:114 o 124; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:115 o 125; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:116 o 126.

[00214] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:112, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:113, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:114, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:115 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:116.

[00215] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:117, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:118, la HCDR3 comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO:113, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:114, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:115 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:116.

[00216] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:119, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:113, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:114, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:115 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:116.

[00217] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:120, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:112, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:113, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:114, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:115 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:116.

[00218] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:121, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:122, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:123, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:124, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:125 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:126.

[00219] En otras modalidades, la región de unión a ILT3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:129, 135, 138 y 139; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:130, 136, 137 y 140, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:131 o 141; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:132 o 142; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de las SEQ ID NO:133, 139, 140 y 141.

93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:133 o 143; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con las SEQ ID NO:134 o 144. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00220] En algunas modalidades específicas, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una o más CDR en la Tabla 8.

[00221] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:129, 135, 138 y 139; (ii) una HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO:130, 136, 137 y 140, (iii) una HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:131 o 141; (iv) una LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:132 o 142; (v) una LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:133 o 143; y/o (vi) una LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO:134 o 144.

[00222] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:129, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:131, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:132, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:133 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:134.

[00223] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:135, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:136, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:131, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:132, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:133 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:134.

[00224] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:129, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:137, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:131, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:132, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:133 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:134.

[00225] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este

documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:138, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:130, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:131, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:132, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:133 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:134.

[00226] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:139, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:140, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:141, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:142, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:143 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:144.

[00227] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 comprende además una o más regiones marco de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:37, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:55, SEQ ID NO:56, SEQ ID NO:73, SEQ ID NO:74, SEQ ID NO:91, SEQ ID NO:92, SEQ ID NO:109, SEQ ID NO:110, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:145 y SEQ ID NO:146. Las regiones marco descritas en este documento se determinan en función de los límites del sistema de numeración de CDR. En otras palabras, si las CDR están determinadas por, p. ej., Kabat, IMGT o Chothia, entonces las regiones marco son los residuos de aminoácidos que rodean las CDR en la región variable en el formato, del extremo N al extremo C: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Por ejemplo, la FR1 se define como los residuos de aminoácidos en el extremo N con respecto a los residuos de aminoácidos de CDR1 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, la FR2 se define como los residuos de aminoácidos entre los residuos de aminoácidos de CDR1 y CDR2 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, la FR3 se define como los residuos de aminoácidos entre los residuos de aminoácidos de CDR2 y CDR3 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, y la FR4 se define como los residuos de aminoácidos en el extremo C con respecto a los residuos de aminoácidos de CDR3 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia.

[00228] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende

la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:37 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:56. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:91 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:92. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:110. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:127 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:128. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:145 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:146.

[00229] En determinadas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento comprende secuencias de aminoácidos con cierto porcentaje de identidad en relación con cualquier región de unión a ILT3 proporcionada en este documento (como en la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3, Tabla 4, Tabla 5, Tabla 6, Tabla 7 y Tabla 8).

[00230] La determinación del porcentaje de identidad entre dos secuencias (p. ej., secuencias de aminoácidos o secuencias de ácidos nucleicos) se puede lograr usando un algoritmo matemático. Un ejemplo no taxativo de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268 (1990), modificado como Karlin y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877 (1993). Dicho algoritmo se incorpora a los programas NBLAST y XBLAST de Altschul *et al.*, J. Mol. Biol. 215:403 (1990). Las búsquedas de nucleótidos en BLAST se pueden realizar con el conjunto de parámetros de programa de nucleótido NBLAST, p. ej., para un valor = 100, longitud de palabra = 12, para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a las moléculas de ácido nucleico descritas en la presente. Las búsquedas de proteínas en BLAST se pueden realizar con el conjunto de parámetros de programa XBLAST, p. ej., para un valor 50, longitud de palabra = 3, para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a una molécula proteica descrita en la presente. Para obtener alineamientos con espacios con fines de comparación, se puede

utilizar Gapped BLAST como se describe en Altschul *et al.*, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997). De manera alternativa, se puede utilizar PSI BLAST para realizar una búsqueda por iteración que detecte relaciones distantes entre las moléculas (*Id.*). Al utilizar los programas BLAST, Gapped BLAST y PSI Blast, se pueden usar los parámetros predefinidos de los programas respectivos (p. ej., de XBLAST y NBLAST) (ver, p. ej., National Center for Biotechnology Information (NCBI, por sus siglas en inglés) en la web, ncbi.nlm.nih.gov). Otro ejemplo no taxativo de un algoritmo matemático que se utiliza para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, CABIOS 4:11-17 (1998). Dicho algoritmo se incorpora en el programa ALIGN (versión 2.0) que es parte del paquete de software de alineamiento de secuencias de GCG. Al utilizar el programa ALIGN para comparar secuencias de aminoácidos, se puede usar una tabla ponderada de residuos PAM120, una penalización de longitud de espacio de 12 y una penalización de espacio de 4. El porcentaje de identidad entre dos secuencias se puede determinar usando técnicas similares a las descritas anteriormente, con o sin espacios permitidos. En el cálculo de porcentajes de identidad, típicamente solo se cuentan las coincidencias exactas.

[00231] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento contiene sustituciones (p. ej., sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones relativas a la secuencia de referencia, pero la región de unión a ILT3 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a ILT3. En algunas modalidades, se han sustituido, insertado y/o eliminado un total de 1 a 10 aminoácidos en una secuencia de aminoácidos de referencia. En algunas modalidades, las sustituciones, inserciones o deleciones ocurren en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR). Opcionalmente, la región de unión a ILT3 proporcionada en la presente incluye modificaciones postraduccionales de una secuencia de referencia.

[00232] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18.

[00233] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:37 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos

85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38.

[00234] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:56.

[00235] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74.

[00236] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:91 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:92.

[00237] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto

a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:110.

[00238] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:127 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:128.

[00239] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:145 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:146.

[00240] En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:37 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:56. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:91 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:92. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo

epítopo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:110. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítopo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:127 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:128. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une al mismo epítopo que una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:145 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:146.

- 10 **[00241]** En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:37 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:38. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:55 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:56. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:73 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:74. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:91 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:92. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de

la SEQ ID NO:109 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:110. En algunas modalidades, la región de unión a ILT3 proporcionada en este documento se une específicamente a ILT3 (p. ej., ILT3 humano) de manera competitiva con una región de unión a ILT3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:145 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:146.

Tabla 1: Secuencias de la región de unión 45G10

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:1)	GFTFSDY (SEQ ID NO:7)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:1)	DYGMH (SEQ ID NO:10)	SDYGMH (SEQ ID NO:11)
Región variable de cadena pesada CDR2	YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:2)	FSGSST (SEQ ID NO:8)	YIFSGSSTIY (SEQ ID NO:9)	YIFSGSSTIYYADTVKG (SEQ ID NO:2)	WVAYIFSGSSTIY (SEQ ID NO:12)
Región variable de cadena pesada CDR3	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:3)	ARADGRGAMD (SEQ ID NO:13)
Región variable de cadena ligera CDR1	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	RASQDISKFLN (SEQ ID NO:4)	SKFLNWWY (SEQ ID NO:14)
Región variable	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	YTSRLHS (SEQ ID NO:5)	LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:15)

de cadena ligera CDR2					NO:15)
Región variable de cadena ligera CDR3	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:6)	QQGNTLPW (SEQ ID NO:16)
VH (SEQ ID NO:17): EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVK GRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLVTVSS					
VL (SEQ ID NO:18): DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKFLNWFYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGS GTDFFTFTISSLQPEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGTKLEIK					

Tabla 2: Secuencias de la región de unión 3A3

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:21)	GFSLTSY (SEQ ID NO:27)	GFSLTSYGVH (SEQ ID NO:21)	SYGVH (SEQ ID NO:30)	TSYGVH (SEQ ID NO:31)
Región variable de cadena pesada CDR2	VIWPGGTINYNS ALMS (SEQ ID NO:22)	WPGGT (SEQ ID NO:28)	VIWPGGTIN (SEQ ID NO:29)	VIWPGGTINYNSA LMS (SEQ ID NO:22)	WLGVIWPG GTIN (SEQ ID NO:32)
Región variable	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	DKYDGGWFAY (SEQ ID NO:23)	ASDKYDGG WFA

de cadena pesada CDR3					(SEQ ID NO:33)
Región variable de cadena ligera CDR1	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	KASQNVRTAVA (SEQ ID NO:24)	RTAVAWY (SEQ ID NO:34)
Región variable de cadena ligera CDR2	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	LASNRHT (SEQ ID NO:25)	ALIYLASNRH (SEQ ID NO:35)
Región variable de cadena ligera CDR3	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:26)	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:26)	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:26)	LQHLNYPLT (SEQ ID NO:26)	LQHLNYPL (SEQ ID NO:36)
Región variable de cadena pesada 3A3 (SEQ ID NO:37) QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHWVRQPPGKGLEWLGVIWPGGTINYNSA LMSRLSISKDNSKSQVFLKLNSLQTDDTAMYYCASDKYDGGWFAYWGQGLTVTSA					
Región variable de cadena ligera 3A3 (SEQ ID NO:38) DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQKPGQSPEALIYLASNRHTGVPDRF TGSGSGTDFSLSISNVQSEDLADYFCLQHLNYPLTFGSGTKLEIK					

Tabla 3: Secuencias de la región de unión 5A7

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:39)	GFTFSSY (SEQ ID NO:45)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:39)	SYGMS (SEQ ID NO:48)	SSYGMS (SEQ ID NO:49)

de cadena pesada CDR1					
Región variable de cadena pesada CDR2	TISGGGSYTNYP DSVKG (SEQ ID NO:40)	SGGGSY (SEQ ID NO:46)	TISGGGSYTN (SEQ ID NO:47)	TISGGGSYTNYP DSVKG (SEQ ID NO:40)	WVATISGGGS YTN (SEQ ID NO:50)
Región variable de cadena pesada CDR3	REWRMTLYAMD Y (SEQ ID NO:41)	REWRMTLYAM DY (SEQ ID NO:41)	REWRMTLYAM DY (SEQ ID NO:41)	REWRMTLYAMD Y (SEQ ID NO:41)	ARREWRMTLY AMD (SEQ ID NO:51)
Región variable de cadena ligera CDR1	RASESVDSYGN SFMH (SEQ ID NO:42)	RASESVDSYG NSFMH (SEQ ID NO:42)	RASESVDSYG NSFMH (SEQ ID NO:42)	RASESVDSYGN SFMH (SEQ ID NO:42)	DSYGN SFMHW Y (SEQ ID NO:52)
Región variable de cadena ligera CDR2	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LTSNLES (SEQ ID NO:43)	LLIYLT SNLE (SEQ ID NO:53)
Región variable de cadena ligera	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:44)	QQNNEDPF (SEQ ID NO:54)

CDR3					
Región variable de cadena pesada 5A7 (SEQ ID NO:55)					
EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMWVRQTPEKRLEWVATISGGGSYTNYPD					
SVKGRLTISRDNAAKNLYLEMSSLRSEDALYYCARREWMTLYAMDYWGQGTSVTVSS					
Región variable de cadena ligera 5A7 (SEQ ID NO:56)					
NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMHWYQQKPGQAPKLLIYLTSLNLESGVPA					
RFGSGSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEDPFTFGSGTKLEIK					

Tabla 4: Secuencias de la región de unión 12A12

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:57)	GYTFTDY (SEQ ID NO:63)	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:57)	DYNMD (SEQ ID NO:66)	TDYNMD (SEQ ID NO:67)
Región variable de cadena pesada CDR2	YIYPNNGGTGYN QKFNS (SEQ ID NO:58)	YPNNGG (SEQ ID NO:64)	YIYPNNGGTG (SEQ ID NO:65)	YIYPNNGGTGYN QKFNS (SEQ ID NO:58)	WIGYIYPNNGG TG (SEQ ID NO:68)
Región variable de cadena pesada CDR3	SPYYDYVGSYA MDY (SEQ ID NO:59)	SPYYDYVGSY AMDY (SEQ ID NO:59)	SPYYDYVGSY AMDY (SEQ ID NO:59)	SPYYDYVGSYAM DY (SEQ ID NO:59)	ASSPYYDYVGS YAMD (SEQ ID NO:69)
Región variable de cadena ligera	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	TASSSVSSSYLH (SEQ ID NO:60)	SSSYLHWY (SEQ ID NO:70)

CDR1					
Región variable de cadena ligera CDR2	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	STSNLAS (SEQ ID NO:61)	LWIYSTSNLA (SEQ ID NO:71)
Región variable de cadena ligera CDR3	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPRT (SEQ ID NO:62)	HQYHRSPR (SEQ ID NO:72)
Región variable de cadena pesada 12A12 (SEQ ID NO:73) EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPNNGGTGYNQ KFNSKATLTVDKSSSTAYMELHSLTSEDSAVYYCASSPYYDYVGSYAMDYWGQGTSTVTVSS					
Región variable de cadena ligera 12A12 (SEQ ID NO:74) QIVLTQSPAIMSASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQQKPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCHQYHRSPRTFGGGGTKLEIK					

Tabla 5: Secuencias de la región de unión 16C5

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:75)	GYTFTDY (SEQ ID NO:81)	GYTFTDYNMD (SEQ ID NO:75)	DYNMD (SEQ ID NO:84)	TDYNMD (SEQ ID NO:85)
Región variable de cadena pesada	YIYPSNNGGTGY NQKFKS (SEQ ID NO:76)	YPSNNG (SEQ ID NO:82)	YIYPSNNGGTG (SEQ ID NO:83)	YIYPSNNGGTGYN QKFKS (SEQ ID NO:76)	WIGYIYPSNNGG TG (SEQ ID NO:86)

CDR2					
Región variable de cadena pesada CDR3	VPYYDYLYYYA MDY (SEQ ID NO:77)	VPYYDYLYYY AMDY (SEQ ID NO:77)	VPYYDYLYYY AMDY (SEQ ID NO:77)	VPYYDYLYYYAM DY (SEQ ID NO:77)	ARVPYYDYLYY YAMD (SEQ ID NO:87)
Región variable de cadena ligera CDR1	RASSSVSFMH (SEQ ID NO:78)	RASSSVSFMH (SEQ ID NO:78)	RASSSVSFMH (SEQ ID NO:78)	RASSSVSFMH (SEQ ID NO:78)	SFMHWY (SEQ ID NO:88)
Región variable de cadena ligera CDR2	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	ATSNLAS (SEQ ID NO:79)	PWIYATSNLA (SEQ ID NO:89)
Región variable de cadena ligera CDR3	QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPYM YT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPYM YT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPYMYT (SEQ ID NO:80)	QQWSTNPYMY (SEQ ID NO:90)
Región variable de cadena pesada 16C5 (SEQ ID NO:91) EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVKQSHGKSLEWIGYIYPSNGGTGYNQ KFKSKATLTVDKSSNTAYMELHSLTSEDSAVYYCARVPYYDYLYYYAMDYWGQGTSVTVSS					
Región variable de cadena ligera 16C5 (SEQ ID NO:92) QIVLSQSPAILSASPGEKVTMACRASSSVSFMHWYQQKPGSSPQPWIYATSNLASGVPARFS GSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWSTNPYMYTFGGGKLEIK					

Tabla 6: Secuencias de la región de unión 48A6

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:93)	GFTFSSY (SEQ ID NO:99)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:93)	SYGMS (SEQ ID NO:102)	SSYGMS (SEQ ID NO:103)
Región variable de cadena pesada CDR2	TISSGGTYTFYP DSVKG (SEQ ID NO:94)	SSGGTY (SEQ ID NO:100)	TISSGGTYTF (SEQ ID NO:101)	TISSGGTYTFYP DSVKG (SEQ ID NO:94)	WVATISSGGTY TF (SEQ ID NO:104)
Región variable de cadena pesada CDR3	RGWLLHYYAMD Y (SEQ ID NO:95)	RGWLLHYYA MDY (SEQ ID NO:95)	RGWLLHYYAM DY (SEQ ID NO:95)	RGWLLHYYAMD Y (SEQ ID NO:95)	ARRGWLLHYYA MD (SEQ ID NO:105)
Región variable de cadena ligera CDR1	RPSESVDSFGNS FMH (SEQ ID NO:96)	RPSESVDSF GNSFMH (SEQ ID NO:96)	RPSESVDSFG NSFMH (SEQ ID NO:96)	RPSESVDSFGN SFMH (SEQ ID NO:96)	DSFGNSFMHWF (SEQ ID NO:106)
Región variable de cadena ligera CDR2	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LSSKLES (SEQ ID NO:97)	LLIYLSSKLE (SEQ ID NO:107)
Región variable	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPFT (SEQ ID NO:98)	QQHNEDPF (SEQ ID NO:108)

de cadena ligera CDR3		NO:98)			
Región variable de cadena pesada 48A6 (SEQ ID NO:109) EVQLVESGGDLMKPGGSLKLSAASGFTFSSYGMSWVRQTPDKRLEWVATISSGGTYTFYPD SVKGRFTISRDNKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCARRGWLLHYYAMDYWGQGTSVTVSS					
Región variable de cadena ligera 48A6 (SEQ ID NO:110) NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRPSESVDSEFGNSFMHWFQQKPGQPPKLLIYLSSKLESGVPA RFSGSGSRTDFTLTIDPVEADDAATYYCQHNEDPFTFGSGTKLEIK					

Tabla 7: Secuencias de la región de unión 53F10

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:111)	GFTFSDY (SEQ ID NO:117)	GFTFSDYGMH (SEQ ID NO:111)	DYGMH (SEQ ID NO:120)	SDYGMH (SEQ ID NO:121)
Región variable de cadena pesada CDR2	YISTGIITVYYADT VKG (SEQ ID NO:112)	STGIIT (SEQ ID NO:118)	YISTGIITVY (SEQ ID NO:119)	YISTGIITVYYADT VKG (SEQ ID NO:112)	WVAYISTGIITV Y (SEQ ID NO:122)
Región variable de cadena pesada CDR3	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ADGRGAMDY (SEQ ID NO:113)	ARADGRGAMD (SEQ ID NO:123)
Región variable	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:114)	RASQDISNFL N	RASQDISNFL N	RASQDISNFLN (SEQ ID NO:114)	SNFLNWHY (SEQ ID NO:124)

de cadena ligera CDR1		(SEQ ID NO:114)	(SEQ ID NO:114)		
Región variable de cadena ligera CDR2	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	YTSRLHS (SEQ ID NO:115)	LLIYYTSRLH (SEQ ID NO:125)
Región variable de cadena ligera CDR3	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPWT (SEQ ID NO:116)	QQGNTLPW (SEQ ID NO:126)
Región variable de cadena pesada 53F10 (SEQ ID NO:127) EVQVVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLEWWAYISTGIITVYYADT VKGRFTMSRDNAKNTLFLQMTSLRSEDTAIYYCARADGRGAMDYWGQGTSVIVSS					
Región variable de cadena ligera 53F10 (SEQ ID NO:128) DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWYQQKPDGTVTLIIYYTSRLHSGVPSRFSG SGSGTDYSLTISNLEQEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK					

Tabla 8: Secuencias de la región de unión Hz5A7.v5

	Ilustrativa	Chothia	AbM	Kabat	Contact
Región variable de cadena pesada CDR1	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:129)	GFTFSSY (SEQ ID NO:135)	GFTFSSYGMS (SEQ ID NO:129)	SYGMS (SEQ ID NO:138)	SSYGMS (SEQ ID NO:139)
Región variable	TISGGGSYTNYP DSVKG	SGGGSY (SEQ ID NO:135)	TISGGGSYTN (SEQ ID NO:129)	TISGGGSYTNYP DSVKG	WVATISGGGS YTN

de cadena pesada CDR2	(SEQ ID NO:130)	NO:136)	NO:137)	(SEQ ID NO:130)	(SEQ ID NO:140)
Región variable de cadena pesada CDR3	REWRYTLYAMD Y (SEQ ID NO:131)	REWRYTLYAM DY (SEQ ID NO:131)	REWRYTLYAM DY (SEQ ID NO:131)	REWRYTLYAMDY (SEQ ID NO:131)	ARREWRYTLY AMD (SEQ ID NO:141)
Región variable de cadena ligera CDR1	RASESVESYGSS FMH (SEQ ID NO:132)	RASESVESYG SSFMH (SEQ ID NO:132)	RASESVESYG SSFMH (SEQ ID NO:132)	RASESVESYGSS FMH (SEQ ID NO:132)	ESYGSSFMH WY (SEQ ID NO:142)
Región variable de cadena ligera CDR2	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LTSNLES (SEQ ID NO:133)	LLIYLTSNLE (SEQ ID NO:143)
Región variable de cadena ligera CDR3	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNNEDPFT (SEQ ID NO:134)	QQNNEDPF (SEQ ID NO:144)
Región variable de cadena pesada Hz5A7.v5 (SEQ ID NO:145)					
EVQLVESGGGLVQP GGSRLSCAASGFTFSSYGMSWVRQAPGKGLEWVATISGGGSYTNYPD SVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARREWRYTLYAMDYWGQGTTVTVSS					
Región variable de cadena ligera Hz5A7.v5 (SEQ ID NO:146)					
DIQLTQSPSFLSASVGDRVITCRASESVESYGSSFMHWYQQKPGKAPKLLIYLTSNLESGVPS					

RFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQNNEDPFTFGQGTKLEIK

5.2 Regiones de unión a CD3

[00242] Los agentes de unión proporcionados en este documento comprenden una región que se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) y, por lo tanto, los agentes de unión presentes son agentes de unión a CD3.

5 **[00243]** Se conocen secuencias de aminoácidos (aa) para CD3 humana (UniProtKB n.º P07766) y CD3 de macaco cangrejero («cyno») (p. ej., isoformas X1 (NCBI n.º de ref. XP_015290838.2) y X2 (NCBI n.º de ref XP_015290839.2). CD3 es una proteína transmembranaria tipo I de paso único con un peso molecular previsto de aproximadamente 23 kDa. Se ha observado que la CD3 se expresa en los linfocitos T, entre otros tejidos. CD3 se caracteriza por un dominio extracelular que comprende dominios de pliegue de Ig emparejados, un dominio transmembranario y un dominio citoplásmico largo que contiene 1 dominio ITAM (véase, p. ej., Kuhns *et al.*, 2006, *Immunity*, 24.2:133-139). Tal como se caracteriza en UniProtKB, la CD3 humana es una proteína de 207 aminoácidos (aa) - la secuencia señal es aa 1-22, el dominio extracelular es aa 23-126, la región transmembranaria es aa 127-152 y el dominio citoplásmico es aa 153-207. Dentro del dominio extracelular, el dominio similar a Ig es aa 32-112. Dentro del dominio citoplásmico, los ITAM son los aa 178-205.

15 **[00244]** La presente divulgación proporciona agentes (p. ej., anticuerpos biespecíficos) que se unen a CD3. En algunas modalidades, el agente de unión a CD3 se une a CD3 humana o un fragmento de este.

20 **[00245]** En algunas modalidades, la región de unión a CD3 en el presente agente de unión es un anticuerpo o un dominio de unión derivado de un anticuerpo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo recombinante. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humano. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG2. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG3. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo de IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG1. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG2. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena pesada de IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera kappa. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera kappa. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende una cadena ligera lambda. En algunas

modalidades, el anticuerpo comprende una región constante de cadena ligera lambda. En algunas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo que comprende un sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, el anticuerpo es un scFv. En algunas modalidades, el anticuerpo es un scFv unido por disulfuro. En algunas modalidades, el anticuerpo es un sc(Fv)₂ unido por disulfuro. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo Fab, Fab' o F(ab)₂. En algunas modalidades, el anticuerpo es un Fab monocatenario (scFab). En algunas modalidades, el anticuerpo es un diacuerpo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un nanocuerpo. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monovalente. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo multivalente. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo bivalente. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo tetravalente.

[00246] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 deriva de un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar mediante cualquier método conocido por aquellos expertos en la materia. En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales se preparan utilizando métodos de hibridoma como se describe en la Sección anterior. En algunas modalidades, los anticuerpos monoclonales se modifican utilizando tecnología de ADN recombinante como se describe en la Sección anterior.

[00247] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 deriva de un anticuerpo humanizado. En la técnica se conocen varios métodos para generar anticuerpos humanizados. En algunas modalidades, un anticuerpo humanizado comprende uno o más residuos de aminoácidos que se han introducido en él desde una fuente que no es humana. En algunas modalidades, la humanización se realiza sustituyendo una o más secuencias de CDR no humanas por las secuencias de CDR correspondientes de un anticuerpo humano. En algunas modalidades, los anticuerpos humanizados se construyen sustituyendo las seis CDR de un anticuerpo no humano (p. ej., un anticuerpo de ratón) por las CDR correspondientes de un anticuerpo humano. Otros métodos de humanización incluyen los descritos en la Sección anterior.

[00248] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 deriva de un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos se pueden preparar utilizando diversas técnicas conocidas en la técnica, incluidas aquellas descritas en la Sección anterior.

[00249] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 es un fragmento de anticuerpo. Por ejemplo, los fragmentos de anticuerpos incluyen, de modo no taxativo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, moléculas de anticuerpos monocatenarios (p. ej., scFv), scFv unidos por disulfuro (dsscFv), nanocuerpos, diacuerpos, tricuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos de dominio variable doble (DVD), anticuerpos de dominio variable único (p. ej., anticuerpos de camélidos), y anticuerpos multiespecíficos

formados a partir de fragmentos de anticuerpos. Los fragmentos de anticuerpos pueden elaborarse mediante varias técnicas, que incluyen, de modo no taxativo, los descritos en la Sección anterior.

[00250] En algunas modalidades específicas, la región de unión a CD3 comprende un anti-CD3 scFv. En algunas modalidades específicas, la región de unión a CD3 comprende uno o más Fab. En algunas modalidades específicas, la región de unión a CD3 comprende un Fab. En otras modalidades específicas, la región de unión a CD3 comprende dos Fab.

[00251] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación (K_D) de $\leq 1 \mu\text{M}$, $\leq 100 \text{ nM}$, $\leq 10 \text{ nM}$, $\leq 1 \text{ nM}$, $\leq 0,1 \text{ nM}$, $\leq 0,01 \text{ nM}$ o $\leq 0,001 \text{ nM}$ (p. ej. 10^{-8} M o menos, p. ej., de 10^{-8} M a 10^{-13} M , p. ej., de 10^{-9} M a 10^{-13} M). En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación de $\leq 0,1 \text{ nM}$. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación de $\leq 0,01 \text{ nM}$. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación de $\leq 2 \text{ nM}$. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación de $\leq 3 \text{ nM}$. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación de $\leq 4 \text{ nM}$. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 que se proporciona en el presente documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una constante de disociación de $\leq 300 \text{ nM}$.

[00252] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una K_D de alrededor de 1 nM a alrededor de $1 \mu\text{M}$. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una K_D de alrededor de 1 nM a alrededor de 500 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 250 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 100 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 50 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 25 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 20 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 15 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 10 nM , de alrededor de 1 nM a alrededor de 5 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de $1 \mu\text{M}$, de alrededor de 5 nM a alrededor de 500 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 250 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 100 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 50 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 25 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 20 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 15 nM , de alrededor de 5 nM a alrededor de 10 nM , de alrededor de 10 nM a alrededor de $1 \mu\text{M}$, de alrededor de 10 nM a alrededor de 500 nM , de alrededor de 10 nM a alrededor de 250 nM , de alrededor de 10 nM a alrededor de 100 nM ,

de alrededor de 10 nM a alrededor de 50 nM, de alrededor de 10 nM a alrededor de 25 nM, de alrededor de 10 nM a alrededor de 20 nM, de alrededor de 10 nM a alrededor de 15 nM, de alrededor de 15 nM a alrededor de 1 μ M, de alrededor de 15 nM a alrededor de 500 nM, de alrededor de 15 nM a alrededor de 250 nM, de alrededor de 15 nM a alrededor de 100 nM, de alrededor de 15 nM a alrededor de 50 nM, de alrededor de 15 nM a alrededor de 25 nM, de alrededor de 15 nM a alrededor de 20 nM, de alrededor de 20 nM a alrededor de 1 μ M, de alrededor de 20 nM a alrededor de 500 nM, de alrededor de 20 nM a alrededor de 250 nM, de alrededor de 20 nM a alrededor de 100 nM, de alrededor de 20 nM a alrededor de 50 nM, de alrededor de 20 nM a alrededor de 25 nM, de alrededor de 25 nM a alrededor de 1 μ M, de alrededor de 25 nM a alrededor de 500 nM, de alrededor de 25 nM a alrededor de 250 nM, de alrededor de 25 nM a alrededor de 100 nM, de alrededor de 25 nM a alrededor de 50 nM, de alrededor de 50 nM a alrededor de 1 μ M, de alrededor de 50 nM a alrededor de 500 nM, de alrededor de 50 nM a alrededor de 250 nM, de alrededor de 50 nM a alrededor de 100 nM, de alrededor de 100 nM a alrededor de 1 μ M, de alrededor de 100 nM a alrededor de 500 nM, de alrededor de 100 nM a alrededor de 250 nM, de alrededor de 250 nM a alrededor de 1 μ M, de alrededor de 250 nM a alrededor de 500 nM o de alrededor de 500 nM a alrededor de 1 μ M.

[00253] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una K_D de alrededor de 5 nM a alrededor de 15 nM. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una K_D de 6 nM a 13 nM. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una K_D de 6 nM según se mide mediante SRP. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une a CD3 (p. ej., CD3 humana) con una K_D de 6 nM a 13 nM según se mide mediante diferentes métodos para determinar la afinidad de unión.

[00254] Se conoce en la técnica una variedad de métodos para medir la afinidad de unión, cualquiera de los cuales puede usarse para los fines de la presente divulgación, incluido RIA, por ejemplo, realizado con la versión Fab de un anticuerpo de interés y su antígeno (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81); por interferometría de biocapas (BLI, por su sigla en inglés) o ensayos de resonancia de plasmones superficiales (SPR) por Octet®, usando, por ejemplo, un sistema Octet®Red96, o por Biacore®, usando, por ejemplo, un Biacore®TM-2000 o un Biacore®TM-3000. También se puede determinar una «constante de asociación» o «velocidad de asociación» o «kon» con las mismas técnicas de interferometría de biocapa (BLI) o de resonancia de plasmones superficiales (SPR) descritas anteriormente usando, por ejemplo, el Octet®Red96, el Biacore®TM-3000 o el sistema Biacore®TM-8000.

[00255] Se puede utilizar cualquier anticuerpo anti-CD3 conocido en la técnica para derivar la región

de unión a CD3 divulgada en este documento, por ejemplo, los anticuerpos anti-CD3 divulgados en Kuhn & Weiner, *Immunotherapy*, 2016 Jul;8(8):889-906, publicaciones de patente internacional n.º WO2016204966, WO2017053856, WO2015095392, WO2016116626, WO2018114748, WO2005118635 y WO2014047231, cuyo contenido se incorpora mediante referencia a este documento.

5 **[00256]** En algunas modalidades, la región de unión a CD3 deriva del anticuerpo descrito en la publicación de patente internacional n.º WO 2008/119567 y la patente estadounidense n.º 10,066,016, cuyo contenido se incorpora mediante referencia al presente documento. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 es como se describe en la sección de ejemplo más adelante (ver Sección 7). En algunas modalidades, la región de unión a CD3 es 2B2 o un derivado de este. En algunas modalidades,
10 la región de unión a CD3 es 1G4 o un derivado de este.

[00257] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una o más secuencias CDR de las secuencias de aminoácidos indicadas en las SEQ ID NO:149, 150, 158 y 159. Las secuencias de CDR se pueden determinar de acuerdo con sistemas de numeración conocidos. En algunas modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración IMGT. En
15 algunas modalidades, las CDR son según la numeración de Kabat. En algunas modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de AbM. En otras modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de Chothia. En otras modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de Contact. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o
20 un marco de consenso humano.

[00258] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ
25 ID NO:150. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150. Las secuencias de CDR se pueden determinar de acuerdo con sistemas de numeración conocidos o una combinación de estos. En algunas modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración IMGT. En algunas modalidades, las CDR son según la numeración de Kabat. En algunas
30 modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de AbM. En otras modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de Chothia. En otras modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de Contact.

[00259] En otras modalidades, la región de unión a CD3 comprende una HCDR1 que comprende una

secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de la SEQ ID NO:152; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de la SEQ ID NO:153, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:154; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:155; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:156; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:157. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00260] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a CD3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.

[00261] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 comprende además una o más regiones marco de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO:149 y 150. Las regiones marco descritas en este documento se determinan en función de los límites del sistema de numeración de CDR. En otras palabras, si las CDR están determinadas por, p. ej., Kabat, IMGT o Chothia, entonces las regiones marco son los residuos de aminoácidos que rodean las CDR en la región variable en el formato, del extremo N al extremo C: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Por ejemplo, la FR1 se define como los residuos de aminoácidos en el extremo N con respecto a los residuos de aminoácidos de CDR1 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, la FR2 se define como los residuos de aminoácidos entre los residuos de aminoácidos de CDR1 y CDR2 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el

sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, la FR3 se define como los residuos de aminoácidos entre los residuos de aminoácidos de CDR2 y CDR3 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, y la FR4 se define como los residuos de aminoácidos en el extremo C con respecto a los residuos de aminoácidos de CDR3 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia.

[00262] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

[00263] En determinadas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende secuencias de aminoácidos con cierto porcentaje de identidad en relación con cualquier región de unión a CD3 proporcionada en este documento. La determinación del porcentaje de identidad se puede lograr utilizando algoritmos matemáticos descritos en la Sección anterior.

[00264] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en el presente documento contiene sustituciones (p. ej., sustituciones conservadoras), inserciones o deleciones relativas a la secuencia de referencia, pero la región de unión a CD3 que comprende esa secuencia conserva la capacidad de unirse a CD3. En algunas modalidades, se han sustituido, insertado y/o eliminado un total de 1 a 10 aminoácidos en una secuencia de aminoácidos de referencia. En algunas modalidades, las sustituciones, inserciones o deleciones ocurren en regiones fuera de las CDR (es decir, en las FR).

Opcionalmente, la región de unión a CD3 proporcionada en la presente incluye modificaciones postraduccionales de una secuencia de referencia.

[00265] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que tiene 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos

de la SEQ ID NO:150. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que tiene al menos 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que tiene entre 95 % y 96 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que tiene entre 90 % y 91 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

[00266] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a CD3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

[00267] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une específicamente a CD3 (p. ej., CD3 humana) de manera competitiva con una región de unión a CD3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

[00268] En algunas modalidades específicas, la región de unión a CD3 es un scFv. En algunas realizaciones, el scFv comprende una o más sustituciones de aminoácidos, tales como aquellas que estabilizan el scFv. En una modalidad específica, la mutación de estabilización de scFv es la mutación G44C. En otra modalidad específica, la mutación de estabilización de scFv es la mutación G100C. En aun otra modalidad, el scFv comprende ambas mutaciones G44C y G100C. En algunas modalidades, el anti-CD3 scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

[00269] En algunas modalidades, el anti-CD3 scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151. En algunas modalidades, el anti-CD3 scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151. En algunas modalidades, el anti-CD3 scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 92 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151. En algunas modalidades, el anti-CD3 scFv comprende una secuencia de aminoácidos que tiene entre 92 % y 93 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

[00270] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:158. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:159. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:158, y una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:159. Las secuencias de CDR se pueden determinar de acuerdo con sistemas de numeración conocidos o una combinación de estos. En algunas modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración IMGT. En algunas modalidades, las CDR son según la numeración de Kabat. En algunas modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de AbM. En otras modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de Chothia. En otras modalidades, las CDR son de acuerdo con la numeración de Contact.

[00271] En otras modalidades, la región de unión a CD3 comprende una HCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de la SEQ ID NO:161; (ii) una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con cualquiera de la SEQ ID NO:162, (iii) una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:163; (iv) una LCDR1 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:164; (v) una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:165; y/o (vi) una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:166. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 está humanizada. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 comprende un marco humano aceptor, p. ej., un marco de inmunoglobulina humana o un marco de consenso humano.

[00272] En algunas modalidades específicas, en la región de unión a CD3 proporcionada en este documento, la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:161, la HCDR2

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:162, la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:163, la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:164, la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:165 y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:166.

- 5 **[00273]** En algunas modalidades, la región de unión a CD3 comprende además una o más regiones marco de las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO:158 y 159. Las regiones marco descritas en este documento se determinan en función de los límites del sistema de numeración de CDR. En otras palabras, si las CDR están determinadas por, p. ej., Kabat, IMGT o Chothia, entonces las regiones marco son los residuos de aminoácidos que rodean las CDR en la región variable en el formato, del extremo N al extremo C: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Por ejemplo, la FR1 se define como los residuos de aminoácidos en el extremo N con respecto a los residuos de aminoácidos de CDR1 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, la FR2 se define como los residuos de aminoácidos entre los residuos de aminoácidos de CDR1 y CDR2 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, la FR3 se define como los residuos de aminoácidos entre los residuos de aminoácidos de CDR2 y CDR3 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia, y la FR4 se define como los residuos de aminoácidos en el extremo C con respecto a los residuos de aminoácidos de CDR3 como se definen, p. ej., según el sistema de numeración de Kabat, el sistema de numeración de IMGT o el sistema de numeración de Chothia.

[00274] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:159.

- 25 **[00275]** En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en el presente documento comprende un dominio VH que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que tiene al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, 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 % de identidad de secuencia con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:159. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que tiene al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que tiene al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con la secuencia

de aminoácidos de la SEQ ID NO:159. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que tiene al menos 97 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que tiene al menos 98 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:159. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento comprende un dominio VH que tiene entre 97 % y 98 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que tiene entre 98 % y 99 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:159.

[00276] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une al mismo epítipo que una región de unión a CD3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:159.

[00277] En algunas modalidades, la región de unión a CD3 proporcionada en este documento se une específicamente a CD3 (p. ej., CD3 humana) de manera competitiva con una región de unión a CD3 que comprende un dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:158 y un dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:159.

[00278] En algunas modalidades específicas, la región de unión a CD3 es un scFv. En algunas realizaciones, el scFv comprende una o más sustituciones de aminoácidos, tales como aquellas que estabilizan el scFv. En algunas modalidades, el scFv comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:160.

5.3 Agentes de unión a ILT3 y CD3 multiespecíficos

[00279] Los agentes de unión a ILT3 × CD3 proporcionados en este documento comprenden una región de unión a ILT3 y una región de unión a CD3, cada una de las cuales se describe con más detalle en la Sección 5.1 y la Sección 5.2 anteriores.

[00280] En determinadas modalidades, la región de unión a ILT3 tiene una afinidad de unión mayor para ILT3 humano que la afinidad de unión de la región de unión a CD3 para CD3 humana. En determinadas modalidades, la afinidad de unión de la región de unión a ILT3 para ILT3 humano es entre alrededor de 10 veces y alrededor de 100 veces mayor que la afinidad de unión de la región de unión a CD3 para CD3 humana. En determinadas modalidades, la afinidad de unión de la región de unión a ILT3 para ILT3 humano es entre alrededor de 10 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 70 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 60 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 50 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 40 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 30 veces, entre alrededor de 10 veces y alrededor de 20 veces, entre

- alrededor de 20 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 70 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 60 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 50 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 40 veces, entre alrededor de 20 veces y alrededor de 30 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 70 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 60 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 50 veces, entre alrededor de 30 veces y alrededor de 40 veces, entre alrededor de 40 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 40 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 40 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 40 veces y alrededor de 70 veces, entre alrededor de 40 veces y alrededor de 60 veces, entre alrededor de 40 veces y alrededor de 50 veces, entre alrededor de 50 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 50 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 50 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 50 veces y alrededor de 70 veces, entre alrededor de 50 veces y alrededor de 60 veces, entre alrededor de 60 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 60 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 60 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 60 veces y alrededor de 70 veces, entre alrededor de 70 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 70 veces y alrededor de 90 veces, entre alrededor de 70 veces y alrededor de 80 veces, entre alrededor de 80 veces y alrededor de 100 veces, entre alrededor de 80 veces y alrededor de 90 veces, o entre alrededor de 90 veces y alrededor de 100 veces mayor que la afinidad de unión de la región de unión a CD3 para CD3 humana. Tal diferencia de afinidad de unión entre las dos regiones de unión permite que los agentes de unión a $ILT3 \times CD3$ se unan a las células diana que expresan $ILT3$ antes de unirse a cualquier linfocito T y, por lo tanto, reduce el efecto colateral y aumenta el perfil de seguridad de los agentes de unión a $ILT3 \times CD3$ descritos en este documento.
- 25 **[00281]** En algunas modalidades, los agentes de unión a $ILT3 \times CD3$ son anticuerpos multiespecíficos tales como anticuerpos biespecíficos. Se puede utilizar cualquier tecnología conocida en la técnica para construir anticuerpos multiespecíficos o cualquier formato multiespecífico conocido en la técnica para construir los presentes anticuerpos multiespecíficos proporcionados en este documento. A continuación, se describen tecnologías y formatos ilustrativos no taxativos.
- 30 **[00282]** Los agentes de unión proporcionados en este documento pueden comprender anticuerpos que tengan una estructura de anticuerpo de longitud completa. «Anticuerpo de longitud completa» se refiere a un anticuerpo que tiene dos cadenas pesadas de anticuerpo de longitud completa y dos cadenas ligeras de anticuerpo de longitud completa. Una cadena pesada (HC) de anticuerpo de longitud completa consiste en dominios variables y constantes de cadena pesada conocidos: VH, CH1, bisagra,

CH2 y CH3. Una cadena ligera (LC) de anticuerpo de longitud completa consiste en dominios variables y constantes de cadena ligera conocidos: VL y CL. El anticuerpo de longitud completa puede carecer de la lisina (K) de extremo C en una o ambas cadenas pesadas. «Brazo Fab» o «media molécula» se refiere a un par de cadena pesada-cadena ligera que se une específicamente a un antígeno.

5 **[00283]** Los anticuerpos biespecíficos de longitud completa se pueden generar, por ejemplo, utilizando el intercambio de brazo Fab (o intercambio de media molécula) entre dos anticuerpos bivalentes monoespecíficos mediante la introducción de sustituciones en la interfaz CH3 de la cadena pesada en cada media molécula para favorecer la formación de heterodímeros de dos medias moléculas de anticuerpo que tengan especificidad distinta, ya sea *in vitro* en un entorno libre de células o utilizando
10 la coexpresión. La reacción de intercambio de brazo Fab es el resultado de una reacción de isomerización por puente disulfuro y disociación-asociación de dominios CH3. Los puentes disulfuro de la cadena pesada en las regiones de bisagra de los anticuerpos monoespecíficos parentales se reducen. Las cisteínas libres resultantes de uno de los anticuerpos monoespecíficos parentales forman un puente disulfuro entre cadenas pesadas con residuos de cisteína de una segunda molécula de anticuerpo
15 monoespecífico parental y, simultáneamente, los dominios CH3 de los anticuerpos parentales se liberan y se reforman por disociación-asociación. Los dominios CH3 de los brazos Fab pueden diseñarse para favorecer la heterodimerización sobre la homodimerización. El producto resultante es un anticuerpo biespecífico que tiene dos brazos Fab o medias moléculas que se unen cada una a un epítipo distinto, es decir, un epítipo en ILT3 y un epítipo en CD3.

20 **[00284]** «Homodimerización» se refiere a una interacción de dos cadenas pesadas que tienen secuencias de aminoácidos CH3 idénticas. «Homodímero» se refiere a un anticuerpo que tiene dos cadenas pesadas con secuencias de aminoácidos CH3 idénticas. «Heterodimerización» se refiere a una interacción de dos cadenas pesadas que tienen secuencias de aminoácidos CH3 no idénticas. «Heterodímero» se refiere a un anticuerpo que tiene dos cadenas pesadas con secuencias de
25 aminoácidos CH3 no idénticas.

[00285] En algunas modalidades, los agentes de unión proporcionados en este documento incluyen diseños como el *Triomab/Quadroma* (Trion Pharma/Fresenius Biotech), *Knob-in-Hole* (Genentech), *CrossMAbs* (Roche) y emparejados electrostáticamente (Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), *LUZ-Y* (Genentech), cuerpo de dominio diseñado con intercambio de cadenas (*SEEDbody*) (EMD
30 Serono), el *Biclonic* (Merus) y el *DuoBody* (Genmab A/S).

[00286] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento está en un formato de botón en ojal. En algunas modalidades, el lado de la región de unión a CD3 (p. ej., anti-CD3 scFv) de la región Fc contiene el ojal y el lado de la región de unión a ILT3 (p. ej., anti-ILT3 Fab) de la región Fc contiene el botón.

[00287] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento está en un formato *DuoBody*.

[00288] La tecnología de *Triomab quadroma* se puede utilizar para generar los anticuerpos biespecíficos de longitud completa que se proporcionan en este documento. La tecnología *Triomab* promueve el intercambio de brazo Fab entre dos anticuerpos quiméricos parentales, un mAb parental que tiene IgG2a y el segundo mAb parental que tiene regiones constantes de IgG2b de rata, produciendo anticuerpos biespecíficos quiméricos.

[00289] La estrategia de «botón en ojal» (véase, p. ej., la publicación internacional n.º WO 2006/028936) se puede utilizar para generar anticuerpos biespecíficos de longitud completa. En resumen, los aminoácidos seleccionados que forman la interfaz de los dominios CH3 en la IgG humana pueden mutarse en posiciones que afectan las interacciones del dominio CH3 para facilitar la formación de heterodímeros. Se introduce un aminoácido con una cadena lateral pequeña (ojal) en una cadena pesada de un anticuerpo que se une específicamente a un primer antígeno y se introduce un aminoácido con una cadena lateral grande (botón) en una cadena pesada de un anticuerpo que se une específicamente a un segundo antígeno. Después de la coexpresión de los dos anticuerpos, se forma un heterodímero como resultado de la interacción preferencial de la cadena pesada que tiene un «ojal» con la cadena pesada que tiene un «botón». Los pares de sustitución CH3 ilustrativos que forman un botón y un ojal son (expresados como posición modificada en el primer dominio CH3 de la primera cadena pesada/posición modificada en el segundo dominio CH3 de la segunda cadena pesada): T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S y T366W/T366S_L368A_Y407V.

[00290] La tecnología *CrossmAb* se puede utilizar para generar los anticuerpos biespecíficos de longitud completa que se proporcionan en este documento. Los *CrossMAB*, además de utilizar la estrategia de «botón en ojal» para promover el intercambio de brazo Fab, tienen en uno de los medios brazos los dominios CH1 y CL intercambiados para asegurar el correcto emparejamiento de la cadena ligera del anticuerpo biespecífico resultante (ver, p. ej., patente estadounidense n.º 8,242,247).

[00291] Se pueden utilizar otras estrategias recombinantes para generar los anticuerpos biespecíficos de longitud completa proporcionados en este documento mediante el intercambio de dominios variables o constantes, o ambos, entre la cadena pesada y la cadena ligera o dentro de la cadena pesada en los anticuerpos biespecíficos, ya sea en uno o en ambos brazos. Estos intercambios incluyen, por ejemplo, VH-CH1 con VL-CL, VH con VL, CH3 con CL y CH3 con CH1, como se describe en las publicaciones internacionales n.º WO 2009/080254, WO 2009/080251, WO 2009/018386 y WO 2009/080252.

[00292] Se pueden utilizar otras estrategias, como promover la heterodimerización de la cadena pesada mediante interacciones electrostáticas sustituyendo residuos con carga positiva en una

superficie CH3 y residuos con carga negativa en una segunda superficie CH3, como se describe en la publicación de patente estadounidense n.º US2010/0015133; publicación de patente estadounidense n.º US2009/0182127; publicación de patente estadounidense n.º US2010/028637; o publicación de patente estadounidense n.º US2011/0123532), cuyos contenidos se incorporan a la presente mediante esta referencia. En otras estrategias, la heterodimerización puede facilitarse mediante las siguientes sustituciones (expresadas como posición modificada en el primer dominio CH3 de la primera cadena pesada/posición modificada en el segundo dominio CH3 de la segunda cadena pesada): L351Y_F405AY407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V K409F Y407A/T366A_K409F, o T350V_L351Y_F405A Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W como se describe en la publicación de patente estadounidense n.º US2012/0149876 o la publicación de patente estadounidense n.º US2013/0195849, cuyos contenidos se incorporan a la presente mediante esta referencia.

[00293] La tecnología *LUZ-Y* se puede utilizar para generar los anticuerpos biespecíficos proporcionados en este documento. En esta tecnología, se agrega una cremallera de leucinas en el extremo C de los dominios CH3 para impulsar el ensamblaje del heterodímero a partir de los mAb parentales que se eliminan después de la purificación como se describe en Wranik *et al.*, (2012) J Biol Chem 287(52): 42221-9.

[00294] La tecnología *SEEDbody* se puede utilizar para generar los anticuerpos biespecíficos proporcionados en este documento. Los *SEEDbodies* tienen, en sus dominios constantes, residuos de IgG seleccionados sustituidos con residuos de IgA para promover la heterodimerización como se describe en la patente estadounidense n.º US20070287170, cuyo contenido se incorpora mediante referencia al presente documento.

[00295] Además de los métodos descritos anteriormente, los agentes de unión proporcionados en este documento se pueden generar *in vitro* en un entorno libre de células introduciendo mutaciones asimétricas en las regiones CH3 de dos anticuerpos homodiméricos monoespecíficos y formando el anticuerpo heterodimérico biespecífico a partir de dos anticuerpos homodiméricos monoespecíficos parentales en condiciones reductoras para permitir la isomerización del puente disulfuro de acuerdo con los métodos descritos en la publicación de patente PCT n.º WO 2011/131746.

[00296] En algunas modalidades descritas en este documento, el anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 comprende una primera región de unión que se une a ILT3 y una segunda región de unión que se une a CD3 y comprende además al menos una sustitución en un dominio constante CH3 del anticuerpo. Las sustituciones normalmente se realizan a nivel de ADN en una molécula como el dominio constante del anticuerpo utilizando métodos estándar.

[00297] Los anticuerpos proporcionados en este documento se pueden modificar genéticamente en diversas formas de anticuerpos conocidas.

[00298] En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico es un diacuerpo o un *cross-body*.

[00299] En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico incluye moléculas similares a IgG con dominios CH3 complementarios que promueven la heterodimerización; moléculas recombinantes de direccionamiento dual similares a IgG, en donde los dos lados de la molécula contienen, cada uno, el fragmento Fab o parte del fragmento Fab de al menos dos anticuerpos diferentes; moléculas de fusión de IgG, en donde los anticuerpos de IgG de longitud completa se fusionan con un fragmento Fab adicional o partes del fragmento Fab; moléculas de fusión Fc, en donde moléculas Fv monocatenarias o diacuerpos estabilizados se fusionan con dominios constantes de cadena pesada, regiones Fc o partes de estas; moléculas de fusión Fab, en donde diferentes fragmentos Fab se fusionan entre sí; anticuerpos basados en ScFv y diacuerpos y anticuerpos de cadena pesada (p. ej., anticuerpos de dominio, nanocuerpos) en donde diferentes moléculas Fv monocatenarias o diferentes diacuerpos o diferentes anticuerpos de cadena pesada (p. ej., anticuerpos de dominio, nanocuerpos) se fusionan entre sí o con otra proteína o molécula portadora.

[00300] En algunas modalidades, las moléculas recombinantes de direccionamiento dual similares a IgG incluyen direccionamiento dual (DT) -Ig (GSK/Domantis), anticuerpo dos en uno (Genentech), Mab reticulados (Karmanos Cancer Center), mAb2 (F-Star) y *CovX-body* (CovX/Pfizer).

[00301] En algunas modalidades, las moléculas de fusión de IgG incluyen dominio variable dual (DVD)-Ig (Abbott), biespecífica similar a IgG (ImClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) y BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) y TvAb (Roche).

[00302] En algunas modalidades, las moléculas de fusión Fc incluyen fusiones ScFv/Fc (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), *TDual Affinity Retargeting Technology* (Fc-DART) (MacroGenics) y Dual(ScFv)₂-Fab (National Research Center for Antibody Medicine -- China).

[00303] En algunas modalidades, los anticuerpos biespecíficos de fusión Fab incluyen, entre F(ab)₂ (Medarex/AMGEN), *Dual-Action* o Bis-Fab (Genentech), *Dock-and-Lock* (DNL) (ImmunoMedics), Bivalent Bispecific (Biotecnol) y Fab-Fv (UCB-Celltech). Los anticuerpos ScFv, basados en diacuerpos y de dominio incluyen, entre otros, activadores de linfocitos T biespecíficos (BiTE) (Micromet, Tandem Diabody (Tandab) (Affimed), *Dual Affinity Retargeting Technology* (DART) (MacroGenics), Diacuerpo monocatenario (Academic), anticuerpos similares a TCR (AIT, ReceptorLogics), fusión de ScFv de seroalbúmina humana (Merrimack) y COMBODY (Epigen Biotech), nanocuerpos de doble diana (Ablynx), anticuerpos de dominio solo de cadena pesada de doble diana. Se han descrito varios formatos de anticuerpos biespecíficos, por ejemplo, en Chames y Baty (2009) Curr Opin Drug Disc Dev 12: 276 y

en Nunez-Prado *et al.*, (2015) Drug Discovery Today 20(5):588-594.

[00304] Cualquiera de los dominios VH y VL identificados aquí (p. ej., aquellos que se unen a CD3) pueden diseñarse en un formato scFv. En algunas modalidades, el formato scFv está en la orientación VH-enlazador-VL. En otras modalidades, el formato scFv está en la orientación VL-enlazador-VH.

5 Cualquiera de los dominios VH y VL identificados en este documento también se pueden utilizar para generar estructuras $sc(Fv)_2$. En algunas modalidades, la estructura $sc(Fv)_2$ es VH-enlazador-VL-enlazador-VL-enlazador-VH. En algunas modalidades, la estructura $sc(Fv)_2$ es VH-enlazador-VL-enlazador-VH-enlazador-VL. En algunas modalidades, la estructura $sc(Fv)_2$ es VH-enlazador-VH-enlazador-VL-enlazador-VL. En algunas modalidades, la estructura $sc(Fv)_2$ es VL-enlazador-VH-enlazador-VH-enlazador-VL. En algunas modalidades, la estructura $sc(Fv)_2$ es VL-enlazador-VH-enlazador-VL-enlazador-VH. En algunas modalidades, la estructura $sc(Fv)_2$ es VL-enlazador-VL-enlazador-VH-enlazador-VH.

[00305] En modalidades específicas, el enlazador es un enlazador peptídico. En algunas modalidades, el enlazador comprende un aminoácido de origen natural. Los aminoácidos ilustrativos
15 que se pueden incluir en el enlazador son Gly, Ser Pro, Thr, Glu, Lys, Arg, Ile, Leu, His y The. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud que es adecuada para unir el VH y el VL o la cadena pesada y la cadena ligera de un Fab de tal manera que formen la conformación correcta entre sí para que conserven la actividad deseada, como la unión a la diana (p. ej., ILT3 o CD3).

[00306] En determinadas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 5-
20 50 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 10-40 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 10-35 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 10-30 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 10-25 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 10-20 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de alrededor de 15-20 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 6 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 7 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 8 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 9 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 10 aminoácidos. En algunas
30 modalidades, el enlazador tiene una longitud de 11 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 12 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 13 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 14 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 15 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 16 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 17

aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 18 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 19 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 20 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 21 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 22 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 23 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 24 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 25 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 26 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 27 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 28 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 29 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 30 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 31 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 32 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 33 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 34 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 35 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 36 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 37 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 38 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 39 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador tiene una longitud de 40 aminoácidos. Los enlazadores ilustrativos que se pueden utilizar son enlazadores ricos en Gly, enlazadores que contienen Gly y Ser, enlazadores que contienen Gly y Ala, enlazadores que contienen Ala y Ser y otros enlazadores flexibles. Los enlazadores ilustrativos incluyen la secuencia $(G_4S)_n$, en donde $n = 1-10$, p. ej., 1-5 o 2-5, para los ejemplos 2, 3, 4 o 5.

[00307] Los enlazadores ilustrativos que se pueden utilizar incluyen cualquiera de los enlazadores descritos, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional n.º WO 2019/060695, cuyo contenido se incorpora mediante referencia al presente documento. En determinadas modalidades, los anticuerpos, incluidos los proporcionados en este documento, comprenden dos enlazadores. En otras modalidades, los anticuerpos proporcionados en este documento comprenden tres enlazadores. En aun otras modalidades, los anticuerpos proporcionados en este documento comprenden cuatro o más enlazadores. En determinadas modalidades, el anticuerpo es un fragmento de unión al antígeno de este.

[00308] En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento está configurado en cualquiera de los formatos divulgados en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F0 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F1 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento

tiene un formato F5 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F13 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F7 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F2 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F6 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F3 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F14 como se muestra en la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento tiene un formato F4 como se muestra en la **Figura 7**.

[00309] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende un scFv que se une a CD3 y un Fab que se une a ILT3, y el agente de unión comprende además una región Fc. En determinadas modalidades, tener la región de unión a CD3 en un formato scFv mejora la citotoxicidad y reduce la liberación de citocinas del agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento.

[00310] En algunas modalidades, la región Fc divulgada en este documento se altera para tener funciones efectoras mediadas por Fc reducidas, como por ejemplo a través de una unión reducida al receptor para el Fc. En algunas modalidades, la región Fc se altera en una o más de las siguientes posiciones de aminoácidos para reducir la unión al receptor para el Fc: Leu 234 (L234), Leu235 (L235), Asp265 (D265), Asp270 (D270), Ser298 (S298), Asn297 (N297), Asn325 (N325) y Ala327 (A327). En determinadas modalidades, la región Fc comprende una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: Leu 234Ala (L234A), Leu235Ala (L235A), Asp265Asn (D265N), Asp270Asn (D270N), Ser298Asn (S298N), Asn297Ala (N297A), Asn325Glu (N325E) y Ala327Ser (A327S). En algunas modalidades, la región Fc está alterada tanto en el aminoácido 234 como en el 235, p. ej., Leu234Ala y Leu235Ala (L234A/L235A). La referencia a las sustituciones de aminoácidos en una región Fc se realiza mediante la numeración EU de Kabat. La numeración EU es conocida y se ajusta a la tabla científica IMGT actualizada más recientemente (IMGT®, international ImMunoGeneTics information System®) y el índice de EU según lo informado en Kabat, E. A. et al. Sequences of Proteins of Immunological interest. 5.^a ed. US Department of Health and Human Services, publicación NIH n.º 91-3242 (1991).

[00311] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 que está enlazado a un brazo de una región Fc, (ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH que se une a ILT3

que está enlazado al otro brazo de la región Fc, y (iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL que se une a ILT3, en donde el dominio VH y el dominio VL forman un Fab que se une a ILT3, y el primer polipéptido y el segundo polipéptido forman la región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V) en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc, y el segundo polipéptido comprende la mutación T366W en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc.

[00312] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 que está enlazado a un brazo de una región Fc, (ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH que se une a ILT3 y un dominio CH1 que está enlazado al otro brazo de la región Fc, y (iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL que se une a ILT3 y un dominio CL, en donde el dominio VH, el dominio CH1, el dominio CL y el dominio VL forman un Fab que se une a ILT3, y el primer polipéptido y el segundo polipéptido forman la región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V) en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc, y el segundo polipéptido comprende la mutación T366W en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc.

[00313] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3, un dominio CH2 y un dominio CH3, (ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH que se une a ILT3, un dominio CH2 y un dominio CH3, y (iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL que se une a ILT3, en donde el dominio VH y el dominio VL forman un Fab que se une a ILT3, y el primer polipéptido y el segundo polipéptido forman una región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende

un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el dominio CH3 del primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V), y el dominio CH3 del segundo polipéptido comprende la mutación T366W.

[00314] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3, un dominio CH2 y un dominio CH3, (ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH que se une a ILT3, un dominio CH1, un dominio CH2 y un dominio CH3, y (iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL que se une a ILT3 y un dominio CL, en donde el dominio VH, el dominio CH1, el dominio CL y el dominio VL forman un Fab que se une a ILT3, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el dominio CH3 del primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V), y el dominio CH3 del segundo polipéptido comprende la mutación T366W. En determinadas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 tiene la configuración que se muestra en F0 de la **Figura 7**.

[00315] En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y un tercer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

[00316] En otras modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende un scFv que se une a CD3 y dos Fab que se unen a ILT3, y el agente de unión comprende además una región Fc. En algunas modalidades, los dos Fab son idénticos y están enlazados entre sí.

[00317] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 que está enlazado a un brazo de una región Fc, (ii) un segundo polipéptido que comprende dos dominios VH idénticos en tándem

que se unen a ILT3 que está enlazado al otro brazo de la región Fc, (iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3 y (iv) un cuarto polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3, en donde los dos dominios VH y los dos dominios VL forman dos Fab que se unen a ILT3, y el primer polipéptido y el segundo polipéptido forman la región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V) en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc, y el segundo polipéptido comprende la mutación T366W en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc.

[00318] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 que está enlazado a un brazo de una región Fc, (ii) un segundo polipéptido que comprende dos dominios VH idénticos que se unen a ILT3 y dos dominios CH1 idénticos, en donde uno de los dominios CH1 está enlazado al otro brazo de la región Fc, (iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3 y un dominio CL, y (iv) un cuarto polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3 y un dominio CL, en donde los dos dominios VH, los dos dominios VL, los dos dominios CH1 y los dos dominios CL forman dos Fab que se unen a ILT3, y el primer polipéptido y el segundo polipéptido forman la región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V) en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc, y el segundo polipéptido comprende la mutación T366W en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc.

[00319] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3, un dominio CH2 y un dominio CH3, (ii) un segundo polipéptido que comprende un primer dominio VH que se une a ILT3, un

segundo dominio VH que se une a ILT3, un dominio CH2 y un dominio CH3, (iii) un tercer polipéptido que comprende un primer dominio VL que se une a ILT3 y (iv) un cuarto polipéptido que comprende un segundo dominio VH que se une a ILT3, en donde el primer dominio VH y el primer dominio VL forman un primer Fab que se une a ILT3, el segundo dominio VH y el segundo dominio VL forman un segundo Fab que se une a ILT3, y el primer polipéptido y el segundo polipéptido forman una región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V) en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc, y el segundo polipéptido comprende la mutación T366W en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc.

[00320] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende: (i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3, (ii) un segundo polipéptido que comprende un primer dominio VH que se une a ILT3, un primer dominio CH1, un segundo dominio VH que se une a ILT3, un segundo dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3, (iii) un tercer polipéptido que comprende un primer dominio VL que se une a ILT3 y un primer dominio CL, y (iv) un cuarto polipéptido que comprende un segundo dominio VL que se une a ILT3 y un segundo dominio CL, en donde el primer dominio VH, el primer dominio CH1, el primer dominio VL y el primer dominio CL forman un primer Fab que se une a ILT3, el segundo dominio VH, el segundo dominio CH1, el segundo dominio VL y el segundo dominio CL forman un segundo Fab que se une a ILT3, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende un dominio de bisagra completo o parcial. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan las funciones efectoras de Fc. En algunas modalidades, la región Fc comprende mutaciones L234A/L235A. En algunas modalidades, la región Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que facilitan la dimerización de los dos brazos de la región Fc. En determinadas modalidades, el primer polipéptido comprende una o más de las mutaciones T366S, L368A e Y407V (p. ej., todas las mutaciones T366S, L368A e Y407V) en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc, y el segundo polipéptido

comprende la mutación T366W en el dominio (p. ej., el dominio CH3) que forma la región Fc. En determinadas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 tiene la configuración que se muestra en F13 de la **Figura 7**. En algunas modalidades específicas, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, un tercer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y un cuarto polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

5.4 Composiciones farmacéuticas

[00321] En otro aspecto general, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en el presente documento y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto general, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un ácido nucleico que codifica el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento o un fragmento o una porción de este y un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto general, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una célula diseñada que expresa el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en el presente documento, un excipiente farmacéuticamente aceptable.

[00322] En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente se preparan para almacenamiento mediante la mezcla del agente de unión que tenga el grado deseado de pureza con excipientes fisiológicamente aceptables opcionales (ver, p. ej., Remington, Remington's Pharmaceutical Sciences (18.^a ed. 1980)) en forma de soluciones acuosas o liofilizadas u otras formas secas.

[00323] En otro aspecto general, se proporciona en este documento un método para producir una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este proporcionado en este documento, que comprende combinar un anticuerpo o un fragmento de unión al antígeno de este con un vehículo farmacéuticamente aceptable para obtener la composición farmacéutica.

5.5 Métodos de uso

[00324] La actividad funcional de los agentes de unión proporcionados en este documento se puede caracterizar mediante métodos conocidos en la técnica y como se describe en este documento. Los métodos para caracterizar agentes de unión incluyen, entre otros, ensayos de afinidad y especificidad, incluidos análisis Biacore, ELISA y OctetRed; ensayos de unión para detectar la unión de anticuerpos a células diana mediante FACS; ensayos de unión para detectar la unión de anticuerpos al antígeno diana en las células. Según modalidades particulares, los métodos para caracterizar los agentes de unión incluyen los que se describen a continuación.

[00325] Un agente de unión a ILT3 × CD3 de la divulgación es útil en una variedad de aplicaciones que incluyen, entre otras, métodos de tratamiento terapéutico, tales como el tratamiento del cáncer que expresa, ILT3 humano). En algunas modalidades, los métodos de tratamiento terapéutico comprenden inmunoterapia para el cáncer que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano). En algunas modalidades, un agente de unión a ILT3 × CD3 es útil para activar, promover, aumentar y/o mejorar una respuesta inmunitaria a un cáncer o células cancerosas que expresan ILT3 (p. ej., ILT3 humano). En algunas modalidades, un agente de unión a ILT3 × CD3 es útil para activar, promover, aumentar y/o mejorar una respuesta inmunitaria a un tumor o células tumorales que expresan ILT3 (p. ej., ILT3 humano). En algunas modalidades, un agente de unión a ILT3 × CD3 es útil para activar, promover, aumentar y/o mejorar una respuesta de linfocito T a un cáncer o células cancerosas que expresan ILT3 (p. ej., ILT3 humano). En algunas modalidades, un agente de unión a ILT3 × CD3 es útil para activar, promover, aumentar y/o mejorar una respuesta de linfocito T a un tumor o células tumorales que expresan ILT3 (p. ej., ILT3 humano). Los métodos de uso pueden ser métodos *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*.

[00326] En un aspecto, se proporciona en este documento un método para dirigir un linfocito T a una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano), que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz de un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento, en donde la región de unión a CD3 se une al linfocito T. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para dirigir un linfocito T a una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano), que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento, en donde la región de unión a CD3 se une al linfocito T. En algunas modalidades, el linfocito T dirigido induce la apoptosis de la célula cancerosa o tumoral. En algunas modalidades, cuando el linfocito T se dirige a la célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano), el linfocito T induce citotoxicidad diferencial y liberación de citocinas. Es decir, un método para dirigir un linfocito T a una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano) da como resultado una citotoxicidad dependiente de linfocitos T (TDCC) que está inversamente relacionada con la liberación de citocinas de los linfocitos T. Por ejemplo, en algunas modalidades, la TDCC aumenta en comparación con una referencia y la liberación de citocinas disminuye en comparación con una referencia. En algunas modalidades, dicha referencia de TDCC es: (a) TDCC medida en una célula o tejido normal correspondiente; (b) TDCC medida en una célula o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto; o (c) TDCC medida en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicha TDCC se determina midiendo la apoptosis. En algunas modalidades, aumenta la apoptosis mediada por caspasa. En algunas modalidades, una referencia de citocina es: (a) una citocina medida en una célula o tejido normal correspondiente; (b) una citocina medida en una célula

o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto; o (c) una citocina medida en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicha liberación de citocinas se determina midiendo TNF α . En algunas modalidades, la liberación de citocinas TNF α disminuye.

5 **[00327]** En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral comprende una célula cancerosa o tumoral hematológica. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral hematológica es una célula de leucemia mielógena aguda (AML). En algunas modalidades, la AML es AML M4/M5. En algunas modalidades, la célula tumoral o cancerosa es una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de
10 linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de
15 linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT). En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral comprende una célula de tumor sólido.

[00328] En algunas modalidades, la célula cancerosa expresa un nivel de ILT3 elevado en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, la célula cancerosa expresa un nivel de ILT3 bajo en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas
20 modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 de referencia es: (a) un nivel de expresión predeterminado de ILT3; (b) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido normal correspondiente; (c) un nivel de expresión de ILT3 medido en una célula o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto; o (d) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 se determina
25 midiendo el nivel de expresión de proteína de ILT3. En algunas modalidades, la célula cancerosa expresa un nivel bajo de ILT3 en comparación con un nivel de expresión de referencia, en donde el nivel de expresión de referencia es el nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido canceroso con ILT3^{elevado} conocido. Las células cancerosas que expresan un nivel bajo de ILT3 incluyen células OCI-AML-2 o NALM-1. Las células cancerosas que expresan un nivel elevado de ILT3 incluyen células AML
30 M4 y M5, MM y B-ALL, THP-1 y MOLM13.

[00329] En algunas modalidades, el agente de unión proporcionado en este documento no induce la destrucción mediada por linfocitos T de una célula madre hematopoyética (HSC) de médula ósea normal.

[00330] En un aspecto, se proporciona en este documento un método para activar un linfocito T, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión a ILT3 $\times$ CD3

proporcionado en este documento, en donde la región de unión a CD3 se une al linfocito T. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para activar un linfocito T, que comprende poner en contacto el linfocito T con una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento. En algunas modalidades, el linfocito T es un linfocito T vírgen.

5 En algunas modalidades, el linfocito T se expande policlonalmente a partir de una población de PBMC.

[00331] En un aspecto, se proporciona en este documento un método para dirigirse a un antígeno en la superficie de una célula diana que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano), el método comprende poner en contacto la célula diana con una cantidad eficaz de un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento, en donde la región de unión a ILT3 se une a la célula diana. En otro aspecto, se

10 proporciona en este documento un método para dirigirse a un antígeno en la superficie de una célula diana, el método comprende poner en contacto la célula diana con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento, en donde la región de unión a ILT3 se une a la célula diana. En algunas modalidades, se proporciona en este documento un método para dirigirse a un antígeno en la superficie de una célula

15 diana, el método comprende poner en contacto la célula diana con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento. En algunas modalidades, la célula diana expresa un nivel de ILT3 elevado en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, la célula diana expresa un nivel de ILT3 bajo en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, dicho nivel

20 de expresión de ILT3 de referencia es: (a) un nivel de expresión predeterminado de ILT3; (b) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido normal correspondiente; (c) un nivel de expresión de ILT3 medido en una célula o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto; o (d) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 se determina midiendo el nivel de expresión de

25 proteína de ILT3. En algunas modalidades, la célula diana expresa un nivel bajo de ILT3 en comparación con un nivel de expresión de referencia, en donde el nivel de expresión de referencia es el nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido canceroso con ILT3^{elevado} conocido. Las células cancerosas que expresan un nivel bajo de ILT3 incluyen células OCI-AML-2 o NALM-1. Las células cancerosas que expresan un nivel elevado de ILT3 incluyen células AML M4 y M5, MM y B-ALL, THP-1 y MOLM13. En

30 algunas realizaciones, la célula diana proviene de un cáncer (p. ej., un cáncer hematológico). En algunas modalidades, la célula diana comprende una célula de una neoplasia maligna de linfocitos B o una leucemia. En algunas modalidades, el cáncer es leucemia mielógena aguda (AML), que incluye AML M4/M5, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de células del

manto (MCL), mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmocitoide (LPL), linfoma folicular, linfoma de Burkitt, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN) o linfoma de la zona marginal (p. ej., linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT)). En algunas modalidades, el cáncer es un tumor sólido.

- 5 **[00332]** En un aspecto, se proporciona en este documento un método para destruir o inhibir la proliferación de una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano), que comprende poner en contacto la célula cancerosa o tumoral con un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para destruir o inhibir la proliferación de una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano), que
- 10 comprende poner en contacto la célula cancerosa o tumoral con una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento. En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 activa un linfocito T. En algunas modalidades, la región de unión a CD3 activa el linfocito T. En algunas modalidades, el linfocito T activado induce la apoptosis de la célula cancerosa o célula tumoral. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral
- 15 comprende una célula cancerosa o tumoral hematológica. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral hematológica es una célula de leucemia mielógena aguda (AML). En algunas modalidades, la AML es AML M4/M5. En algunas modalidades, la célula tumoral o cancerosa es una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una
- 20 célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado
- 25 a las mucosas (MALT). En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral comprende una célula de tumor sólido. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral expresa un nivel de ILT3 elevado en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral expresa un nivel de ILT3 bajo en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 de referencia es: (a) un nivel de expresión
- 30 predeterminado de ILT3; (b) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido normal correspondiente; (c) un nivel de expresión de ILT3 medido en una célula o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto; o (d) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 se determina midiendo el nivel de expresión de proteína de ILT3. En algunas modalidades, la célula cancerosa

expresa un nivel bajo de ILT3 en comparación con un nivel de expresión de referencia, en donde el nivel de expresión de referencia es el nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido canceroso con ILT3^{elevado} conocido. Las células cancerosas que expresan un nivel bajo de ILT3 incluyen células OCI-AML-2 o NALM-1. Las células cancerosas que expresan un nivel elevado de ILT3 incluyen células AML M4 y M5, MM y B-ALL, THP-1 y MOLM13.

[00333] En un aspecto, se proporciona en este documento un método para un cáncer o tumor que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano) en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento. En otro aspecto, se proporciona en este documento un método para tratar un cáncer o tumor que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano) en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento o la composición farmacéutica proporcionada en este documento. En algunas modalidades, el cáncer o tumor es un cáncer o tumor hematológico. En algunas modalidades, el cáncer o tumor es una leucemia. En algunas modalidades, el cáncer o tumor hematológico es leucemia mielógena aguda (AML). En algunas modalidades, el cáncer o tumor es un síndrome mielodisplásico. Los síndromes mielodisplásicos (MDS) son un grupo de cánceres en los que las células sanguíneas inmaduras de la médula ósea no maduran y, por lo tanto, no se convierten en células sanguíneas sanas. En algunas modalidades, el síndrome mielodisplásico evoluciona a AML. En algunas modalidades, el cáncer o tumor es leucemia mielógena aguda (AML), que incluye AML M4/M5, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto (MCL), mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmocitoide (LPL), linfoma folicular, linfoma de Burkitt, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN) o linfoma de la zona marginal (p. ej., linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT)). En algunas modalidades, el cáncer o tumor comprende un tumor sólido. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral expresa un nivel de ILT3 elevado en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral expresa un nivel de ILT3 bajo en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 de referencia es: (a) un nivel de expresión predeterminado de ILT3; (b) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido normal correspondiente; (c) un nivel de expresión de ILT3 medido en una célula o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto; o (d) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 se determina midiendo el nivel de expresión de proteína de ILT3. En algunas modalidades, la célula cancerosa expresa un nivel bajo de ILT3 en comparación con un nivel de expresión de referencia, en donde el nivel

de expresión de referencia es el nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido canceroso con ILT3^{elevado} conocido. Las células cancerosas que expresan un nivel bajo de ILT3 incluyen células OCI-AML-2 o NALM-1. Las células cancerosas que expresan un nivel elevado de ILT3 incluyen células AML M4 y M5, MM y B-ALL, THP-1 y MOLM13.

5 **[00334]** En otro aspecto, se proporciona en este documento un uso del agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer o tumor que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano) en un sujeto de este. En aun otro aspecto, se proporciona en este documento un agente de unión para su uso en el tratamiento de un cáncer o tumor que expresa ILT3 (p. ej., ILT3 humano). En algunas modalidades, el cáncer o tumor es un cáncer o tumor
10 hematológico. En algunas modalidades, el cáncer o tumor es leucemia mielógena aguda (AML), que incluye AML M4/M5, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto (MCL), mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmocitoide (LPL), linfoma folicular, linfoma de Burkitt, neoplasia de células dendríticas
15 plasmocitoides blásticas (BPDCN) o linfoma de la zona marginal (p. ej., linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT)). En algunas modalidades, el cáncer o tumor es un síndrome mielodisplásico. Los síndromes mielodisplásicos (MDS) son un grupo de cánceres en los que las células sanguíneas inmaduras de la médula ósea no maduran y, por lo tanto, no se convierten en células sanguíneas sanas. En algunas modalidades, el síndrome mielodisplásico evoluciona a AML. En
20 determinadas modalidades, el cáncer o tumor comprende un cáncer hematológico. En algunas modalidades, el cáncer o tumor hematológico es leucemia mielógena aguda (AML). En algunas modalidades, la AML es AML M4/M5. En algunas modalidades, el cáncer o tumor comprende un tumor sólido.

[00335] En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral expresa un nivel de ILT3 elevado en
25 comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, la célula cancerosa o tumoral expresa un nivel de ILT3 bajo en comparación con un nivel de expresión de referencia. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 de referencia es: (a) un nivel de expresión predeterminado de ILT3; (b) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido normal correspondiente; (c) un nivel de expresión de ILT3 medido en una célula o tejido no canceroso vecino en el mismo sujeto;
30 o (d) un nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido correspondiente que se determina en una cohorte de sujetos sanos. En algunas modalidades, dicho nivel de expresión de ILT3 se determina midiendo el nivel de expresión de proteína de ILT3. En algunas modalidades, la célula cancerosa expresa un nivel bajo de ILT3 en comparación con un nivel de expresión de referencia, en donde el nivel de expresión de referencia es el nivel de expresión de ILT3 en una célula o tejido canceroso con

ILT3^{elevado} conocido. Las células cancerosas que expresan un nivel bajo de ILT3 incluyen células OCI-AML-2 o NALM-1. Las células cancerosas que expresan un nivel elevado de ILT3 incluyen células AML M4 y M5, MM y B-ALL, THP-1 y MOLM13.

[00336] En algunas modalidades, el sujeto es un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, el sujeto es un ser humano. En modalidades específicas, se administra al sujeto una cantidad eficaz del agente de unión o la composición farmacéutica que se divulgan en este documento.

[00337] Según modalidades particulares, las composiciones farmacéuticas descritas en este documento están formuladas para ser adecuadas para la vía de administración prevista a un sujeto. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas descritas en este documento pueden formularse para ser adecuadas para la administración intravenosa, subcutánea o intramuscular.

[00338] En algunas modalidades, el agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento se usa en combinación de una terapia complementaria.

[00339] Tal como se utiliza en el presente documento, el término «en combinación», en el contexto de la administración de dos o más terapias a un sujeto, se refiere al uso de más de una terapia. El uso del término «en combinación» no restringe el orden en que se administran las terapias a un sujeto. Por ejemplo, una primera terapia (p. ej., una composición descrita en este documento) se puede administrar antes de (p. ej., 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), de forma simultánea o posterior a (p. ej., 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 16 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después) la administración de una segunda terapia a un sujeto.

5.6 Kits

[00340] En otro aspecto general, la divulgación se refiere a kits que comprenden un anticuerpo biespecífico aislado o un fragmento de unión al antígeno de este proporcionado en este documento e instrucciones para su uso.

[00341] En una modalidad, se proporciona un kit que comprende un agente de unión a ILT3 × CD3 proporcionado en este documento. Los kits descritos se pueden utilizar para llevar a cabo los métodos de uso de los fragmentos de unión a ILT3 × CD3 proporcionados en este documento, u otros métodos conocidos por los expertos en la materia. En algunas modalidades, los kits descritos pueden incluir los anticuerpos o fragmentos de unión al antígeno descritos en este documento y reactivos para su uso en la detección de la presencia de un agente de unión a ILT3 × CD3 en una muestra biológica. Por consiguiente, los kits descritos pueden incluir uno o más de los anticuerpos, o fragmento(s) de unión al antígeno de estos, descritos en este documento y un recipiente para contener el anticuerpo o fragmento

cuando no está en uso, instrucciones para el uso del anticuerpo o fragmento, el anticuerpo o fragmento fijado a un soporte sólido y/o formas detectablemente marcadas del anticuerpo o fragmento, como se describe en este documento.

[00342] En otra modalidad, se proporciona un kit que comprende el agente de unión a $ILT3 \times CD3$ que comprende una primera región de unión que se une específicamente a $ILT3$ y una segunda región de unión que se une específicamente a $CD3$ proporcionadas en este documento.

[00343] En algunas modalidades, el kit comprende un anticuerpo descrito en este documento y reactivos para detectar el anticuerpo. El kit puede incluir además uno o más elementos adicionales que incluyen: instrucciones de uso; otros reactivos, p. ej., un marcador, un agente terapéutico o un agente útil para quelar, o acoplar de otro modo, un anticuerpo con un marcador o agente terapéutico, o una composición radioprotectora; dispositivos y otros materiales para preparar el anticuerpo para su administración; portadores farmacéuticamente aceptables; y dispositivos u otros materiales para la administración a un sujeto.

[00344] En algunas modalidades, el kit comprende el agente de unión a $ILT3 \times CD3$ proporcionado en este documento en un recipiente e instrucciones para el uso del kit.

[00345] En algunas modalidades, el agente de unión a $ILT3 \times CD3$ en el kit está marcado.

[00346] En caso de conflicto, prevalecerá la memoria descriptiva, que incluye las definiciones. Tal como se usan en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular «un», «uno/a» y «el/la» incluyen referentes en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a una «secuencia peptídica» o «un tratamiento» incluye una pluralidad de dichas secuencias, tratamientos y así sucesivamente. Se destaca además que las reivindicaciones se pueden redactar para excluir cualquier elemento opcional. En sí, esto pretende ser una base antecedente para el uso de terminología exclusiva tal como «solamente», «únicamente» y similares en relación con la enumeración de los elementos de las reivindicaciones o el uso de una limitación «negativa».

[00347] Cuando se proporciona un intervalo de valores, se deberá entender que cada valor intermedio, hasta la décima de la unidad del límite inferior salvo que el contexto claramente establezca lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor establecido o intermedio en ese intervalo establecido, están comprendidos dentro de la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos más pequeños pueden incluirse de forma independiente en los intervalos más pequeños y también están comprendidos dentro de la invención, sujetos a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Cuando el intervalo establecido incluye uno o ambos de los límites, los intervalos que excluyan cualesquiera o ambos límites incluidos también se incluyen en la invención.

[00348] Tal como se utilizará en la presente, los valores numéricos se presentan frecuentemente en un formato de intervalos a lo largo del documento. El uso de un formato de intervalos es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible del alcance de la invención a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por consiguiente, el uso de un intervalo incluye, de forma expresa, todos los posibles subintervalos, todos los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo y todos los valores numéricos o intervalos numéricos que incluyen números enteros dentro de dichos intervalos y fracciones de los valores o de los números enteros dentro de los intervalos a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Esta interpretación es aplicable sin importar el alcance del intervalo en todos los contextos a lo largo del presente documento de patente.

Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a un intervalo de 90-100 % incluye 91-99 %, 92-98 %, 93-95 %, 91-98 %, 91-97 %, 91-96 %, 91-95 %, 91-94 %, 91-93 % y así sucesivamente. La referencia a un intervalo de 90-100 % también incluye 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, etc., así como también 91,1 %, 91,2 %, 91,3 %, 91,4 %, 91,5 %, etc., 92,1 %, 92,2 %, 92,3 %, 92,4 %, 92,5 %, etc., y así sucesivamente. Además, la referencia a un intervalo de 1-3, 3-5, 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-60, 60-70, 70-80, 80-90, 90-100, 100-110, 110-120, 120-130, 130-140, 140-150, 150-160, 160-170, 170-180, 180-190, 190-200, 200-225, 225-250 incluye 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, etc. En un ejemplo adicional, la referencia a un intervalo de 25-250, 250-500, 500-1000, 1000-2500, 2500-5000, 5000-25 000 o 5000-50 000 incluye cualquier valor o intervalo numérico dentro o que comprende tales valores, p. ej., 25, 26, 27, 28, 29...250, 251, 252, 253, 254....500, 501, 502, 503, 504..., etc. El uso de una serie de intervalos incluye combinaciones de los intervalos superiores e inferiores para proporcionar otro intervalo. Esta interpretación es aplicable sin importar el alcance del intervalo en todos los contextos a lo largo del presente documento de patente. Por tanto, por ejemplo, la referencia a una serie de intervalos tales como 5-10, 10-20, 20-30, 30-40, 40-50, 50-75, 75-100, 100-150 incluye intervalos tales como 5-20, 5-30, 5-40, 5-50, 5-75, 5-100, 5-150, y 10-30, 10-40, 10-50, 10-75, 10-100, 10-150, y 20-40, 20-50, 20-75, 20-100, 20-150, y así sucesivamente.

[00349] Con fines de brevedad, se utilizan determinadas abreviaturas en la presente. Un ejemplo es la abreviatura con una letra sola para representar residuos de aminoácidos. Los aminoácidos y sus abreviaturas de tres letras o de una letra correspondientes son los siguientes:

alanina	Ala	(A)
arginina	Arg	(R)
asparagina	Asn	(N)
ácido aspártico	Asp	(D)
cisteína	Cys	(C)
ácido glutámico	Glu	(E)

glutamina	Gln	(Q)
glicina	Gly	(G)
histidina	His	(H)
isoleucina	Ile	(I)
leucina	Leu	(L)
lisina	Lys	(K)
metionina	Met	(M)
fenilalanina	Phe	(F)
prolina	Pro	(P)
serina	Ser	(S)
treonina	Thr	(T)
triptófano	Trp	(W)
tirosina	Tyr	(Y)
valina	Val	(V)

[00350] La invención se describe generalmente en la presente mediante el uso de lenguaje afirmativo para describir las diversas modalidades. La invención también incluye específicamente modalidades en las que se excluye, total o parcialmente, una materia particular, como sustancias o materiales, etapas y condiciones de métodos, protocolos, procedimientos, ensayos o análisis. Por lo tanto, aunque la invención generalmente no se expresa aquí en términos de lo que la invención no incluye; no obstante, aspectos que no están expresamente incluidos en la invención se divulgan en este documento.

[00351] En la presente se describen modalidades particulares de la invención, lo cual incluye el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Al leer la descripción anterior, las variaciones de las modalidades descritas pueden resultar evidentes para las personas que trabajan en la técnica y se espera que los expertos en la técnica puedan emplear tales variaciones según corresponda. Por consiguiente, se espera que la invención se lleve a cabo de otra manera que no sea la descrita específicamente en la presente y que la invención incluya todas las modificaciones y equivalentes de la materia establecida en las reivindicaciones adjuntas a la presente como permita la ley aplicable. Además, la invención abarca cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las posibles variaciones de estos, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que el contexto lo contradiga claramente de otro modo.

[00352] Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, números de acceso y otras referencias citadas en esta memoria descriptiva se incorporan aquí mediante referencia en su totalidad como si cada publicación individual o solicitud de patente se indicara específica e individualmente que se incorpora mediante referencia. Las publicaciones descritas en la presente se proporcionan solamente para su

divulgación antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Ningún contenido de la presente debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a preceder a dicha publicación en virtud de la invención anterior. Además, las fechas de publicación proporcionadas pueden ser diferentes de las fechas de publicación reales que pueden necesitar ser confirmadas de forma independiente.

[00353] Se ha descrito una cantidad de modalidades de la invención. Sin embargo, se entenderá que se pueden realizar diversas modificaciones sin apartarse del espíritu y alcance de la invención. Por consiguiente, las descripciones en la sección experimental pretenden ilustrar pero no limitar el alcance de la invención que se describe en las reivindicaciones.

6. MODALIDADES

[00354] La presente invención proporciona las siguientes modalidades no taxativas:

1. Un agente de unión que comprende una primera región de unión que se une a ILT3 humano y una segunda región de unión que se une a CD3 humana, en donde la región de unión a CD3 comprende un anti-CD3 scFv.

2. El agente de unión de la modalidad 1, en donde la primera región de unión comprende un anti-ILT3 Fab.

3. El agente de unión de la modalidad 1 o 2, en donde la afinidad de unión de la primera región de unión para ILT3 humano es mayor que la afinidad de unión de la segunda región de unión para CD3 humana.

4. El agente de unión de la modalidad 3, la afinidad de unión de la primera región de unión para ILT3 humano es entre alrededor de 10 veces y alrededor de 100 veces mayor que la afinidad de unión de la segunda región de unión para CD3 humana.

5. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 1-4, comprende además una región Fc.

6. El agente de unión de la modalidad 5, que comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende un dominio VH de la primera región de unión, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y

(iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL de la primera región de unión y un dominio CL,

en donde el dominio VH de la primera región de unión, el dominio CH1, el dominio VL de la primera región de unión y el dominio CL forman el anti-ILT3 Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

7. El agente de unión de la modalidad 6, en donde el primer polipéptido comprende una o más

mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

- 5 8. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 1-7, en donde la segunda región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149; y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150.
9. El agente de unión de la modalidad 8, en donde, en la segunda región de unión,
10 el dominio VH de la segunda región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154; y el dominio VL de la segunda región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ
15 ID NO:156 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.
10. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 1-9, en donde la primera región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.
- 20 11. El agente de unión de la modalidad 10, en donde, en la primera región de unión,
(a) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de
25 aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;
- (b) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el
30 dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;
- (c) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos

de la SEQ ID NO:9, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

5 (d) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o

10 (e) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

12. El agente de unión de la modalidad 10 u 11, en donde

(i) la primera región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; o

25 (ii) la primera región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

30 13. Un agente de unión que comprende una primera región de unión que se une a ILT3 humano y una segunda región de unión que se une a CD3 humana, en donde la segunda región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150.

14. El agente de unión de la modalidad 13, en donde el dominio VH de la segunda región de unión

comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154; y el dominio VL de la segunda región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155; la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156; y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.

15. El agente de unión de la modalidad 13 o 14, en donde la primera región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

16. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 13-15, en donde, en la primera región de unión,

(a) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(b) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(c) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(d) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o

(e) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

17. El agente de unión de la modalidad 15 o 16, en donde

(i) la primera región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; o

(ii) la primera región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

18. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 13 a 17, en donde la primera región de unión comprende un anti-ILT3 Fab.

19. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 13 a 18, en donde la segunda región de unión comprende un anti-CD3 scFv.

20. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 13 a 19, en donde el agente de unión comprende además una región Fc.

21. El agente de unión de la modalidad 20, en donde el agente de unión comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH de la primera región de unión, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y

(iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL de la primera región de unión y un dominio CL,

en donde el dominio VH de la primera región de unión, el dominio CH1, el dominio VL de la

primera región de unión y el dominio CL forman el anti-ILT3 Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

22. El agente de unión de la modalidad 21, en donde el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

23. El agente de unión de la modalidad 21 o 22, en donde

(i) el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y el tercer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20, o

(ii) el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y el tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

24. El agente de unión de las modalidades 13 a 17, en donde la primera región de unión comprende dos anti-ILT3 Fab idénticos, y la segunda región de unión comprende un anti-CD3 scFv.

25. El agente de unión de la modalidad 24, en donde el agente de unión comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende un primer dominio VH, un segundo dominio VH, un primer dominio CH1, un segundo dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3, en donde cada uno del primer y segundo dominio VH comprende el dominio VH de la primera región de unión;

(iii) un tercer polipéptido que comprende un primer dominio VL y un primer dominio CL, en donde el primer dominio VL comprende el dominio VL de la primera región de unión; y

(iv) un cuarto polipéptido que comprende un segundo dominio VL y un segundo dominio CL, en donde el segundo dominio VL comprende el dominio VL de la primera región de unión,

en donde el primer dominio VH y el primer dominio CH1 del segundo polipéptido y el primer dominio VL y el primer dominio CL del tercer polipéptido forman una primera región Fab, el segundo dominio VH y el segundo dominio CH1 del segundo polipéptido y el segundo dominio VL y el segundo dominio CL del cuarto polipéptido forman una segunda región Fab, y el primer dominio CH2, el segundo

dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

26. El agente de unión de la modalidad 25, en donde el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

27. El agente de unión de la modalidad 25 o 26, en donde

(i) el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, el tercer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y el cuarto polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20; o

(ii) el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, el tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y el cuarto polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

28. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 1-12 y 19-27, en donde el anti-CD3 scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

29. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 28, en donde el agente de unión es un anticuerpo humanizado.

30. Un agente de unión que comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 humana, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende un dominio VH que se une a ILT3 humano, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y

(iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3 humano y un dominio CL,

en donde el scFv que se une a CD3 humana comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150; y

en donde el dominio VH que se une a ILT3 humano comprende una HCDR1, una HCDR2 y una

HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que se une a ILT3 humano comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

31. El agente de unión de la modalidad 30, en donde:

5 (a) la HCDR1 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153, la HCDR3 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154, la LCDR1 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la LCDR2 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156, y la LCDR3 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la
10 SEQ ID NO:157; y

(b) en el dominio VH que se une a ILT3 humano y el dominio VL que se une a ILT3 humano
(i) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4;
15 la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(ii) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4;
20 la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(iii) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4;
25 la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(iv) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4;
30 la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o

(v) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO:14; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15; y el LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

32. El agente de unión de la modalidad 30 o 31, en donde el dominio VH del scFv que se une a CD3 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y el dominio VL del scFv que se une a CD3 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; y el dominio VH que se une a ILT3 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17; y el dominio VL que se une a ILT3 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18.

33. El agente de unión de cualquiera de las modalidades 30 a 32, en donde el scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

34. Un polinucleótido aislado que codifica el agente de unión de cualquiera de las modalidades hasta 33.

35. Un vector que comprende el polinucleótido de la modalidad 34.

36. Una célula aislada que comprende el polinucleótido de la modalidad 34 o el vector de la modalidad 35.

37. Una célula aislada que produce el agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 33.

38. Una composición farmacéutica que comprende el agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 33, el polinucleótido aislado de la modalidad 34, el vector de la modalidad 35 o la célula aislada de la modalidad 36 o 37, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

39. Un método para dirigir un linfocito T a una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 33 o la composición farmacéutica de la modalidad 38.

40. El método de la modalidad 39, en donde el linfocito T induce la destrucción de la célula cancerosa o la célula tumoral que expresa ILT3.

41. El método de la modalidad 40, en donde la célula cancerosa o tumoral es una célula cancerosa o tumoral hematológica.

42. El método de la modalidad 41, en donde la célula tumoral o cancerosa hematológica se selecciona del grupo que consiste en una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de AML M4/M5, una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

43. El método de cualquiera de las modalidades 39 a 42, en donde el linfocito T no induce la destrucción de una célula madre hematopoyética (HSC) normal.
44. Un método para activar un linfocito T, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 33 o la composición farmacéutica de la modalidad 38, en donde la segunda región de unión se une al linfocito T.
45. El método de la modalidad 44, en donde el linfocito T es un linfocito T virgen.
46. El método de la modalidad 44 o 45, en donde el linfocito T se expande policlonalmente a partir de una población de PBMC.
47. Un método para destruir o inhibir la proliferación de una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3, que comprende poner en contacto la célula cancerosa o tumoral con el agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 33 o la composición farmacéutica de la modalidad 38.
48. El método de la modalidad 47, en donde el agente de unión activa un linfocito T.
49. El método de la modalidad 48, en donde el linfocito T activado induce la destrucción de la célula cancerosa o tumoral.
50. El método de cualquiera de las modalidades 47 a 49, en donde la célula cancerosa o tumoral comprende una célula cancerosa o tumoral hematológica.
51. El método de la modalidad 50, en donde la célula tumoral o cancerosa hematológica se selecciona del grupo que consiste en una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de AML M4/M5, una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).
52. Un método para tratar un cáncer o un tumor que expresa ILT3 en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz del agente de unión de cualquiera de las modalidades 1 a 33 o la composición farmacéutica de la modalidad 38 al sujeto.
53. El método de la modalidad 52, en donde el cáncer o tumor es un cáncer o tumor hematológico.
54. El método de la modalidad 53, en donde el cáncer o tumor hematológico se selecciona del grupo que consiste en leucemia mielógena aguda (AML), AML M4/M5, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto (MCL), mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmocitoide (LPL), linfoma folicular,

linfoma de Burkitt, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), linfoma de la zona marginal o linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

7. EJEMPLOS

[00355] La siguiente es una descripción de varios métodos y materiales utilizados en los estudios, y se presentan para proporcionar a los expertos en la técnica una divulgación y descripción completas de cómo fabricar y utilizar la presente invención, y no pretenden limitar el alcance de lo que los inventores consideran su invención ni pretenden representar que los experimentos a continuación se llevaron a cabo y son todos los experimentos que se pueden llevar a cabo. Debe entenderse que las descripciones ilustrativas escritas en tiempo presente no se llevaron a cabo necesariamente, sino que las descripciones se pueden realizar para generar los datos y similares asociados con los principios de la presente invención. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números utilizados (p. ej., cantidades, temperatura, etc.), pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales.

[00356] A menos que se indique lo contrario, las partes son partes en peso, el peso molecular es peso molecular promedio, la temperatura se expresa en grados Celsius (°C) y la presión es la atmosférica o cercana a esta. Se utilizan abreviaturas estándar, incluidas las siguientes: bp = par(es) de bases; kb = kilobase(s); s o seg = segundo(s); min = minuto(s); h o hr = hora(s); aa = aminoácido(s); kb = kilobase(s); nt = nucleótido(s); pg = picogramo; ng = nanogramo; µg = microgramo; mg = miligramo; g = gramo; kg = kilogramo; pl o pL = picolitro(s); dl o dL = decilitro; µl o µL = microlitro; ml o mL = mililitro; l o L = litro; µM = micromolar; mM = milimolar; M = molar; kDa = kilodalton; i.m. = intramuscular(mente); i.p. = intraperitoneal(mente); SC o SQ = subcutánea(mente); QD = diariamente; BID = dos veces al día; QW = semanalmente; TIW = tres veces a la semana; QM = mensual; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento; BW = peso corporal; U = unidad; ns = no estadísticamente significativo; PBS = solución salina amortiguada con fosfato; PCR = reacción en cadena de la polimerasa; NHS = N-hidroxisuccinimida; HSA = seroalbúmina humana; BSA = seroalbúmina bovina; DMEM = medio de Eagle modificado por Dulbecco; GC = copia del genoma; EDTA = ácido etilendiaminotetraacético.

[00357] Los métodos experimentales a continuación se usaron en los Ejemplos descritos en el presente documento.

[00358] Protocolo para la generación de linfocitos T expandidos. Se purificaron linfocitos T a partir de PBMC humanos mediante selección negativa utilizando el kit de aislamiento de linfocitos T pan (Miltenyi) y se activaron con Dynabeads recubiertos con anticuerpos humanos anti-CD3/CD28 (Gibco/ThermoFisher Scientific) en una relación célula:microesfera de 1:1 en medio X-Vivo 15 (Lonza) que contenía suero humano normal al 5 % (MilliporeSigma), GlutaGro 2 mM (Corning), HEPES 10 mM (Corning) y 5 ng/mL de IL-17, 5 ng/mL de IL-15 y 25 ng/mL de IL-2 (todos de Peprotech) durante 2 días.

Después de la eliminación de los Dynabeads mediante el paso por una columna magnética, los linfocitos T activados se cultivaron durante 8 días más en el mismo medio y se congelaron de manera viable en medio de conservación de células CryoStor CS10 (StemCell Technologies) para su uso futuro en ensayos de citotoxicidad dependiente de linfocitos T (TDCC).

- 5 **[00359] Protocolo para la generación de líneas celulares fluorescentes rojas para su uso en ensayos de citotoxicidad dependiente de linfocitos T (TDCC).** Las líneas celulares diana se transfectaron de forma estable con colorante nuclear rojo utilizando el reactivo Nuclight Red lentivirus (Sartorius) a una multiplicidad de infección (MOI) de 1-3. Las células fluorescentes rojas se clasificaron en un citómetro de flujo Aria II y se expandieron.
- 10 **[00360] Protocolo para evaluar la citotoxicidad dependiente de linfocitos T (TDCC) con linfocitos T expandidos.** Un día antes del ensayo de toxicidad de linfocitos T, los linfocitos T expandidos criopreservados (generados como se describió anteriormente) se descongelaron y se cultivaron en medio X-Vivo 15 (Lonza) durante la noche. Al día siguiente, los pocillos de las placas de fondo plano de 96 pocillos se rellenaron previamente con 100 µL/pocillo de diluciones en serie del anticuerpo problema diluido en X-Vivo 15 $\times 4 \times$ la concentración final. Se utilizó una concentración final máxima de 1 µg/mL de cada artículo experimental. Los linfocitos T expandidos criopreservados se descongelaron de forma viable y se resuspendieron a una densidad de 1×10^6 células/mL en medio X-Vivo 15 y se agregaron a las placas a 50 µL/pocillo. Las líneas celulares fluorescentes se contaron y se resuspendieron a una densidad de 2×10^5 células/mL en medio X-Vivo 15 y se agregaron a las placas a 50 µL/pocillo. La relación final de células efectoras:células diana fue de 5:1. Se añadió a los pocillos el reactivo Caspase 3/7 Green (Sartorius), un dominio de escisión de caspasa (DEVD) acoplado a un marcador fluorescente verde de unión al ADN que se libera tras la escisión de DEVD por la caspasa 3/7 activada, a una concentración final de 1:1000. Luego se obtuvieron imágenes de los cultivos durante un período de 24 horas utilizando un generador de imágenes de células vivas Incucyte ZOOM (Sartorius). El porcentaje de células diana apoptóticas se determinó mediante la superposición de las señales roja y verde (caspasa 3/7+). Los datos se analizaron utilizando el software Incucyte ZOOM, versión 2018A (Sartorius). En algunos experimentos, los sobrenadantes de cultivos libres de células se recolectaron después de 24 horas y se analizaron para determinar los niveles de citocinas mediante Luminex (sistema ProcartaPlex; ThermoFisher Scientific).
- 20 **[00361] Protocolo para evaluar la citotoxicidad de PBMC.** Los pocillos de las placas de fondo plano de 96 pocillos se rellenaron previamente con 100 µL/pocillo de diluciones en serie del anticuerpo problema diluido en medio X-Vivo 15 (Lonza) a $4 \times$ la concentración final. Se utilizó una concentración final máxima de 10 µg/mL de cada artículo experimental. Los PBMC humanos criopreservados se descongelaron de forma viable y se resuspendieron a una densidad de 1×10^6 células/mL en medio X-
- 25
- 30

Vivo 15 y se agregaron a las placas a 50 μ L/pocillo. Las líneas celulares fluorescentes se contaron y se resuspendieron a una densidad de 2×10^5 células/mL en medio X-Vivo 15 y se agregaron a las placas a 50 μ L/pocillo. La relación final de células efectoras:células diana fue de 5:1. Se añadió a los pocillos el reactivo Caspase 3/7 Green (Sartorius), un dominio de escisión de caspasa (DEVD) acoplado a un marcador fluorescente verde de unión al ADN que se libera tras la escisión de DEVD por la caspasa 3/7 activada, a una concentración final de 1:1000. Luego se obtuvieron imágenes de los cultivos durante un período de 24 horas utilizando un generador de imágenes de células vivas Incucyte ZOOM (Sartorius) y se recolectaron los sobrenadantes para mediciones de citocinas mediante Luminex (sistema ProcartaPlex; ThermoFisher Scientific) después de 24 horas. El porcentaje de células diana apoptóticas se determinó mediante la superposición de las señales roja y verde (caspasa 3/7+). Los datos se analizaron utilizando el software Incucyte ZOOM, versión 2018A (Sartorius).

[00362] Ensayo de liberación de citocinas en sangre completa. La activación inmunitaria por los anticuerpos y las moléculas de referencia se evaluó mediante un ensayo de liberación de citocinas. Los anticuerpos se analizaron tanto en formato recubierto en placa como en formato soluble. Para el formato recubierto en placa, se prepararon diluciones de anticuerpos a las concentraciones indicadas en PBS y se agregaron a placas de cultivo de tejidos de fondo plano de 96 pocillos a 50 μ L/pocillo. Las placas se incubaron a 4 °C en un agitador a 300 rpm durante la noche, seguido de dos lavados con PBS. Para el formato de anticuerpo soluble, se prepararon diluciones de anticuerpo a 20X la concentración final indicada y se agregaron 7,5 μ L/pocillo al fondo de placas de cultivo de tejidos con fondo en U de 96 pocillos. Se añadió sangre entera recién recogida y tratada con heparina Na^{2+} a las placas a 150 μ L/pocillo y las muestras se incubaron a 37 °C durante la noche. Después de la centrifugación a $1800 \times g$ durante 5 minutos a temperatura ambiente, se recogió plasma de cada pocillo para el análisis de citocinas mediante el ensayo Luminex (sistema ProcartaPlex; ThermoFisher Scientific). Las moléculas de referencia utilizadas incluyeron enterotoxina estafilocócica B (1 μ g/ml, solo soluble), anti-CD3 (Biolegend) y un anticuerpo superagonista anti-CD28 (clon ANC28.1, AnCell).

[00363] Ensayo de liberación de citocinas de PBMC. El ensayo de liberación de citocinas con PBMC se realizó de manera similar al ensayo de liberación de citocinas en sangre completa, excepto que los PBMC crioconservados se descongelaron de manera viable y se colocaron en placas a 2×10^5 células/pocillo en medio X-Vivo 15 (Lonza) en un volumen final de 150 μ L/pocillo.

[00364] Ensayo de activación de linfocitos T con muestras de AML primaria. La médula ósea crioconservada o los PBMC de pacientes con AML M5 (Reprocell) se descongelaron en HBSS a temperatura ambiente y se resuspendieron en RPMI 1640 (Corning) que contenía FBS al 10 % inactivado por calor, GlutaGro al 1 % (Corning), β -mercaptoetanol 50 mM (Gibco/ThermoFisher Scientific) y penicilina-estreptomicina al 1 % (Corning). Se agregaron células de AML primaria ($2 \times$

10⁵ células/pocillo en 100 µL de medio) a 100 µL de anticuerpos problema preparados a una concentración 2× en medio X-Vivo 15. Las células se incubaron con anticuerpos problema durante 5 días a 37 °C. El día 5, las células se recolectaron y se tiñeron durante 30 minutos a 4 °C con los anticuerpos conjugados con fluorocromo que se enumeran a continuación. Los datos se recopilaron en un citómetro de flujo LSR Fortessa (BD Biosciences) y se analizaron utilizando el software FlowJo, versión 10.

	Fluoróforo	Proveedor	n.º de cat.	n.º. cat de isotipo
CD45	805	Becton Dickinson	612891	612904
CD34	395	Becton Dickinson	563778	563547
CD3	650	Becton Dickinson	563999	563231
CD4	PerCP 5.5	Becton Dickinson	552838	522384
CD25	605	Biolegend	302632	400161
CD14	PE	Biolegend	367104	557436
ILT3	647	Biolegend	333010	400130
CD123	786	Becton Dickinson	751834	563330
Azul Sytox	421	Life Technologies	S34857	

[00365] Ensayo TDCC con CD34⁺ HSC primarias. Un día antes del ensayo de toxicidad de linfocitos T, los linfocitos T expandidos criopreservados (generados como se describió anteriormente) se descongelaron y se cultivaron en medio X-Vivo 15 (Lonza) durante la noche. El día del ensayo, las células de médula ósea CD34⁺ criopreservadas (StemCell Technologies) se descongelaron en HBSS (Corning) a temperatura ambiente y se resuspendieron en medio X-Vivo 15. Los pocillos de las placas de 96 pocillos se llenaron previamente con 100 µL de anticuerpos problema a una concentración 2×. Se agregaron células madre hematopoyéticas CD34⁺ (1 × 10⁴ células/pocillo en un volumen de 50 µL) y linfocitos T expandidos (5 × 10⁴ células/pocillo en un volumen de 50 µL) a cada pocillo que contenía los anticuerpos problema y se agregó reactivo Caspase 3/7 Green (Sartorius) a una concentración final de 1:1000. Las células se cultivaron durante la noche a 37 °C. Después de la centrifugación, se recogieron los sobrenadantes para el análisis de secreción de citocinas y las células se tiñeron durante 30 minutos a 4 °C con anticuerpos contra CD45, CD25, CD34, ILT3 y CD123 utilizando los reactivos enumerados anteriormente. Los datos se recopilaron en un citómetro de flujo LSR Fortessa (BD Biosciences) y se analizaron utilizando el software FlowJo, versión 10.

7.1 Ejemplo 1: Generación de moléculas biespecíficas ILT3 × CD3

[00366] El propósito de este estudio fue diseñar un activador de linfocitos T citotóxicos con una selectividad mejorada por las células tumorales y un índice terapéutico mejorado (es decir, una alta

afinidad para unirse a las células que expresan ILT3 y un buen perfil de seguridad combinado con una destrucción eficiente de las células tumorales). La seguridad de un activador de linfocitos T depende de minimizar la liberación de citocinas y maximizar la destrucción de células tumorales. El índice terapéutico se mide utilizando la relación entre la destrucción de células tumorales y la liberación de citocinas inducida por el activador de linfocitos T. Cuanto mayor sea la relación, mejor será el índice terapéutico para un activador de linfocitos T.

[00367] Se analizó un panel de anticuerpos anti-ILT3 y anticuerpos anti-CD3 con diferentes afinidades de unión (alta y baja). El criterio principal para la selección del brazo dirigido a ILT3 del biespecífico fue la alta afinidad. El criterio para seleccionar un brazo dirigido a CD3 fue un buen índice terapéutico. Además, la lógica del diseño fue que el brazo dirigido a ILT3 se uniera a ILT3 con una afinidad 10× a 100× veces mayor que el brazo dirigido a CD3 que se une a CD3, de modo que el activador de linfocitos T se uniera a las células cancerosas que expresaban ILT3 antes de activar cualquier linfocito T. Como resultado, este diseño redujo el efecto colateral y aumentó el perfil de seguridad. Se evaluaron la citotoxicidad de las células tumorales y la producción de citocinas con diversas combinaciones y formatos de anticuerpos.

[00368] Selección del brazo dirigido a ILT3. Varios clones de anticuerpos ILT3 (ver Tablas 1-8) se acoplaron a CD3 scFv de alta afinidad (2B2) o CD3 scFv de baja afinidad (1G4). Las afinidades de unión de varios anticuerpos ILT3 para ILT3 se muestran en la Tabla 9. La citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) de cada anti-ILT3 Fab cuando se acopla a CD3 scFv 2B2 o CD3 scFv 1G4 se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9

Brazo ILT3	Afinidad de ILT3 (nM)	TDCC, EC ₅₀ (nM)	
		Brazo CD3	
		2B2 (6 nM)	1G4 (217 nM)
Hz45G10	0,13	0,008	1,26
53F10	0,25	0,013	2,0
48A6	0,08	0,025	0,50
3A3	2,0	0,40	50,12
16C5	0,7	3,16	50,12
12A12	8,5	3,16	251,2

[00369] Todas las moléculas biespecíficas ILT3 × CD3 analizadas indujeron TDCC y liberación de

citocinas. Entre todos los clones anti-ILT3 analizados, Hz45G10 tuvo alta afinidad por ILT3. Hz45G10 cuando se combina con CD3 scFv 2B2 (**Figura 2**) o CD3 scFv 1G4 (**Figura 3**) indujo apoptosis de manera potente en comparación con otros clones de anticuerpos ILT3 (16C5 o 12A12). Además, Hz45G10 Fab cuando se combina con CD3 scFv 2B2 indujo una baja liberación de TNF α (**Figura 4**, Tabla 10). La alteración del anticuerpo ILT3 no tuvo efecto sobre la relación entre la citotoxicidad y la producción de citocinas (véase la Tabla 10).

Tabla 10

Brazo ILT3	TDCC, EC ₅₀ (nM)	Afinidad de ILT3 (nM)	TNF- α , EC ₅₀ (nM)	Relación (TDCC/TNF)
Hz45G10	0,008	0,13	1,58	0,005
53F10	0,013	0,25	2,0	0,007
48A6	0,025	0,08	2,51	0,010
3A3	0,4	2,0	79,4	0,005
16C5	3,16	0,7	398,1	0,008
12A12	3,16	8,5	2511,9	0,001

[00370] Selección del brazo dirigido a CD3. La afinidad del brazo de unión a CD3 de un activador de linfocitos T puede variar dependiendo del brazo de unión del antígeno tumoral. Para el activador de linfocitos T ILT3-CD3, se produjo un CD3 scFv óptimo basado en el clon Hz45G10 seleccionado. En primer lugar, se analizaron dos clones CD3 scFv con diferente afinidad de unión a CD3 (CD3 scFv 2B2 con una alta afinidad por CD3 y r CD3 scFv 1G4 con una baja afinidad por CD3, véase la publicación internacional n.º WO 2008/119567 y la patente estadounidense n.º 10,066,016) cuando se combinó con Hz45G10. El CD3 scFv 2B2 mostró una afinidad 35 veces mayor por CD3 que el scFv 1G4. El scFv 2B2 mostró un aumento de 160 veces en la citotoxicidad celular dependiente de linfocitos T (TDCC) en comparación con el scFv IG4, pero solo aumentó la producción de citocinas 20 veces. Véase la **Figura 5**, **Figura 6** y la Tabla 11.

Tabla 11

TDCC, EC ₅₀ (nM)	Secreción de TNF- α , EC ₅₀ (nM)
Brazo CD3	Brazo CD3

2B2 (6 nM)	1G4 (217 nM)	2B2 (6 nM)	1G4 (217 nM)
0,008	1,26	50,12	2,51

[00371] En vista de los resultados anteriores, se desarrolló un clon anti-CD3 scFv con alta afinidad de unión a CD3 (VH como la SEQ ID NO:149, VL como la SEQ ID NO:150, $K_D = 6$ nM determinado por SPR). La afinidad de unión de Hz45G10 para ILT3 humano fue 38 veces mayor que la del CD3 scFv.

- 5 **[00372]** A continuación, se generó un anticuerpo biespecífico que incorpora Hz45G10 y el CD3 scFv en una variedad de formatos tal como se indica en la **Figura 7** y se evaluó. Se examinaron todos los formatos biespecíficos en ensayos de citotoxicidad y liberación de citocinas.

- 10 **[00373]** El formato de anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 F0 (es decir, ABX1446) mostró una fuerte actividad citolítica (ver la Tabla 12 y la **Figura 8**) en la línea celular de AML, MOLM13. El formato de anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 F0 también indujo una baja secreción de citocinas en un ensayo de liberación de citocinas en sangre completa cuando se agregó sangre completa a placas recubiertas previamente con F0 (**Figura 9**) o se agregó a un medio de cultivo con F0 soluble (**Figura 10**). Véase la Tabla 13. De manera similar, entre los formatos de prueba, F13 (es decir, ABX1520) mostró una fuerte actividad citolítica pero una baja secreción de citocinas.

15 **Tabla 12**

	Formato	TDCC, EC ₅₀ (pM)
Vibecotamab		0,8
ABX1446	F0	0,9
ABX1376	F2	0,09
ABX1380	F1	0,007
ABX1506	F6	0,01
ABX1507	F5	0,15
ABX1524	F7	0,02

Tabla 13

Formato	Ab recubierto		Ab soluble		
	EC ₅₀ ,	TNF-α a	EC ₅₀ , TNF-α	TNF-α	a

	TNF- α (nM)	10 μ g/mL Ab (pg/mL)	(nM)	10 μ g/mL Ab (pg/mL)
Vibecotamab	2,05	422,5	ND	1217,9
F0	114,0	73,3		112,3
F2	3,07	1075,3		1475,4
F1	0,027	1012,9		1524,5
F6	0,524	856,7		1235,2
F5	1,386	852,7		1185,6
F7	0,016	1176,1		1784,9

7.2 Ejemplo 2: Caracterización *in vitro* de moléculas biespecíficas ILT3 $\times$ CD3

[00374] El propósito de este estudio fue evaluar la actividad *in vitro* de F0 (es decir, ABX1446) y F13 (es decir, ABX1520) en líneas celulares que expresan ILT3. Los ensayos de toxicidad celular y secreciones de citocinas se llevaron a cabo como se describe en el Ejemplo 1.

[00375] ABX1446 y ABX1520 indujeron de forma potente la apoptosis en células de AML ILT3 positivas (ILT3⁺) (MOLM13) cuando se utilizaron linfocitos T expandidos (**Figura 11**) o linfocitos T vírgenes (de PBMC; **Figura 12**) como efectores. Véase la Tabla 14.

Tabla 14

	TDCC, EC ₅₀ (pM)	Citotoxicidad de PBMC, EC ₅₀ (pM)
Vibecotamab	6,3	24,5
ABX1446	10,9	46,8
ABX1520	1,4	53,7

[00376] ABX1446 y ABX1520 indujeron de forma potente la apoptosis en células de AML con baja expresión de ILT3 (células OCI-AML-2 y NALM-1) cuando se utilizaron linfocitos T expandidos (**Figura 13**, **Figura 14** y Tabla 15) o linfocitos T vírgenes (de PBMC; **Figura 15**, **Figura 16** y Tabla 16) como efectores.

Tabla 15

	TDCC frente a células OCI-	TDCC frente a células
--	----------------------------	-----------------------

	AML-2, EC ₅₀ (pM)	NALM-1, EC ₅₀ (pM)
Vibecotamab	106,2	5,0
ABX1446	13,5	5,7
ABX1520	23,3	3,6

Tabla 16

	TDCC frente a células OCI- AML-2, EC ₅₀ (pM)	TDCC frente a células NKM- 1, EC ₅₀ (pM)
Vibecotamab	20,0	11,2
ABX1446	2,5	20,4
ABX1520	2,0	2,6

[00377] ABX1446 y ABX1520 no lograron inducir la TDCC contra células THP-1 con inactivación de
5 ILT3. Véase la **Figura 17** y Tabla 17.

Tabla 17

	TDCC frente a células THP-1 con inactivación de ILT3, EC ₅₀ (pM)
Vibecotamab	2,7
ABX1446	
ABX1520	-

[00378] ABX1446 y ABX1520 indujeron una baja liberación de citocinas en un ensayo de secreción
de citocinas de PBMC cuando los PBMC se incubaron con ABX1446 o ABX1520 en un formato
recubierto en placa (**Figura 18**) o en un formato soluble (**Figura 19**). Véase la Tabla 18.

10 Tabla 18

	Ab recubierto		Ab soluble	
	EC ₅₀ ,	TNF-α a	EC ₅₀ ,	TNF-α a

	TNF- α (nM)	10 μ g/mL Ab (pg/mL)	TNF- α (nM)	10 μ g/mL Ab (pg/mL)
Vibecotamab	18	3764,9	35,3	3777,1*
ABX1446	21,5	1492,9	42,5	1837,2**
ABX1520	9,4	1726,8	45,8	2240,0***

*Vibecotamab: 10 μ g/mL Ab = 74,62 nM

**ABX1446: : 10 μ g/mL Ab = 80,65 nM

***ABX1520: : 10 μ g/mL Ab = 55,2 nM

[00379] ABX1446 y ABX1520 indujeron una baja liberación de citocinas en un ensayo de secreción de citocinas en sangre completa cuando la sangre completa se incubó con ABX1446 en un formato recubierto en placa (**Figura 20**) o en un formato soluble (**Figura 21**). Véase la Tabla 19. Además, aunque ABX1446 y vibecotamab mostraron una potencia similar en los ensayos de citotoxicidad de PBMC, ABX1446 indujo una baja secreción de citocinas en los ensayos de citotoxicidad de PBMC. Véase la **Figura 22, Figura 23** y Tabla 20.

10 Tabla 19

Donante 830	Ab recubierto	
	EC ₅₀ , TNF- α (nM)	TNF- α a 10 μ g/mL Ab (pg/mL)
Vibecotamab	2,05	422,5*
ABX1446	114,0	73,3**
ABX1376	3,07	1075,3
Donante 830	Ab soluble	
	EC ₅₀ , TNF- α (nM)	TNF- α a 10 μ g/mL Ab (pg/mL)
Vibecotamab	ND	179,3*
ABX1446	ND	53,1**
ABX1376	ND	356,3
ABX1520	ND	24,6***

Tabla 20

	EC ₅₀ , TNF- α (nM)	EC ₅₀ , IL-6 (nM)	EC ₅₀ , IL-2 (nM)	EC ₅₀ , IFN- γ (nM)
Vibecotamab	0,03	2,5	0,1	0,03
ABX1446	0,3	7933,3	0,1	0,4

*Vibecotamab: 10 μ g/mL Ab = 74,62 nM

**ABX1446: 10 μ g/mL Ab = 80,65 nM

***ABX1520: 10 μ g/mL Ab = 55,2 nM

- 5 **[00380]** En comparación con un CD123 $\times$ CD3 DART (Flotetuzumab), ABX1446 indujo una baja secreción de citocinas (**Figura 25**) pero indujo una potente apoptosis en células MOLM13 (**Figura 24**). ABX1446 indujo una menor secreción de citocinas en comparación con Flotetuzumab. Véase la Tabla 21.

Tabla 21

	TDCC, EC ₅₀ (pM)	Liberación de citocinas	
		EC ₅₀ , TNF- α (nM)	TNF- α a 10 μ g/mL Ab (pg/mL)
Vibecotamab	6,5	-7,56	518,1
Flotetuzumab	0,97	ND	778,2
ABX1446	11	-7,1	61,5

10

[00381] Para estudiar la expansión y activación de linfocitos T en PBMC aislados de pacientes con AML M5, los PBMC se incubaron con ABX1446 y la expansión y la activación se midieron mediante citometría de flujo. ABX1446 indujo la expansión (**Figura 26**) y la activación (**Figura 27**) de linfocitos T en PBMC M5.

- 15 **[00382]** ABX1446 no logró inducir el agotamiento (**Figura 28**) y la apoptosis (**Figura 29**) contra las HSC primarias.

[00383] Además, ABX1446 no logró eliminar las células inmunitarias no monocíticas. CD123 se expresa en muchos tipos de células inmunitarias, mientras que ILT3 se expresa solo en un subconjunto. El uso del anticuerpo biespecífico Vibecotamab podría representar un riesgo de seguridad en el entorno

clínico. Por tanto, se midió la citotoxicidad en basófilos KU812 y basófilos LAMA84. Ambos tipos de células son CD123 positivos e ILT3 negativos. Por lo tanto, ABX1446 no tuvo ningún efecto sobre estos basófilos. Véase la **Figura 30** y la **Figura 31**.

[00384] Las células de mieloma múltiple también expresan ILT3. El formato de anticuerpo biespecífico ILT3 × CD3 F0 (ABX1446) mostró una fuerte actividad citolítica contra las líneas celulares de mieloma múltiple MM1S (**Figura 32**), H929 (**Figura 33**) y U226B1 (**Figura 34**). Véase la Tabla 22.

Tabla 22

	MM1S	H929	U226B1
	TDCC, EC ₅₀ (pM)		
Blincyto	704,7	1503,1	163,7
ABX1446	18,6	18,62	6,5

[00385] Los estudios descritos anteriormente demostraron que ABX1446 mostró una potente citotoxicidad con bajos niveles de liberación de citocinas en comparación con el activador de linfocitos T biespecífico Vibecotamab. Además, ABX1446 no eliminó las HSC ni las células inmunitarias maduras. Por tanto, ABX1446 tenía un perfil de seguridad que lo distingue de los anticuerpos biespecíficos que activan los linfocitos T que se encuentran actualmente en el mercado.

7.3 Ejemplo 3: Caracterización *in vivo* de moléculas biespecíficas ILT3 × CD3

[00386] El propósito de este estudio fue evaluar la actividad *in vivo* de F0 (es decir, ABX1446) y F13 (es decir, ABX1520) en tres modelos de ratón de AML humana, incluido un modelo de AML MOLM13 (**Figura 35**), un modelo de AML MV4;11 (**Figura 35**) y un modelo con ratones humanizados CD34+ injertados con células de AML MV4;11 (**Figura 39**).

[00387] En el modelo de ratón MOLM13, ABX1446 y ABX1520 disminuyeron la cantidad de células tumorales circulantes de manera similar a Vibecotamab. Véase la **Figura 36** y Tabla 23.

Tabla 23

Grupo	Células tumorales prom. por 1 µL de sangre
NTB	0
anti-KLH	11,7
hz45G10	7,5

IO-202	5,6
ABX1559	10,4
Vibecotamab	1,0
ABX1446	0,9
ABX1520	2,2

[00388] En el modelo de ratón MV4;11, los ratones que recibieron concentraciones en aumento (0,01 mpk, 0,1 mpk y 1 mpk) de ABX1446 tuvieron una reducción de la cantidad de células tumorales circulantes en la semana 2 (**Figura 37**) y la semana 3 (**Figura 38**), de manera similar a Vibecotamab. Véase la Tabla 24, que representa el número de células MV4;11 por μL de sangre.

5 Tabla 24

Grupo	Semana 2*	Semana 3*
NTB	0,2	0,04
anti-KLH	100,1	480,4
Vibecotamab 0,01 mpk	50,2	173,4
Vibecotamab 0,1 mpk	12,5	71,0
Vibecotamab 1 mpk	0,4	6,1
ABX1446 0,01 mpk	42,4	206,6
ABX1446 0,1 mpk	3,2	6,9
ABX1446 1 mpk	1,9	6,6

[00389] En el modelo con ratones humanizados CD34⁺ injertados con células AML MV4;11, ABX1446 disminuyó la cantidad de células MV4;11 circulantes por μL de sangre. Véase la **Figura 40** y la Tabla 25, que representa el número de células MV4;11 por μL de sangre. Los ratones recibieron ABX1446, anti-KLH y Vibecotamab a 1 mpk.

10 Tabla 25

Grupo	células MV4;11*
anti-KLH	734,8
Vibecotamab	1,2

ABX1446	0,2
---------	-----

[00390] Los estudios descritos anteriormente demostraron que ABX1446 inhibió el crecimiento tumoral en tres modelos de ratón de AML humana diferentes.

7.4 Ejemplo 4: Caracterización de moléculas biespecíficas ILT3 × CD3 en cultivos de células tumorales primarias

- 5 **[00391]** La actividad de las moléculas biespecíficas ILT3 × CD3 se evaluó en la plataforma Native Tumor Microenvironment (Vivia Biotech). En esta plataforma, se cultivaron muestras completas de médula ósea de pacientes humanos diagnosticados con AML M5 con un ajuste de la dosis de ABX1446. Se evaluó la activación de linfocitos T y el agotamiento de células tumorales. Brevemente, se evaluó la médula ósea completa de tres pacientes con AML M5 en la plataforma Native Tumor Microenvironment
- 10 de Vivia Biotech. Los datos demográficos de los donantes de médula ósea son los siguientes:

Tabla 26. Datos demográficos de pacientes

Identificación del donante	Subtipo FAB	Edad	Línea de tratamiento	Terapia previa
13273	M5	31	Recidivante/refractario	Idarubicina, citarabina
15443	M5	44	Recién diagnosticado	Desconocido
15802	M5b	68	Recién diagnosticado	Desconocido

- [00392]** Para cada muestra, se descongeló de forma viable toda la médula ósea crioconservada y se cuantificó la densidad del receptor para ILT3 al inicio del estudio mediante citometría de flujo utilizando microesferas Quantibrite (BD Biosciences, 340495) y un anticuerpo ILT3 conjugado con PE (clon ZM4.1, BD Biosciences, 333007). Además, se utilizó citometría de flujo para contar el número de células tumorales y linfocitos T al inicio del estudio. Se calculó la relación efector:diana (E:T) al inicio para cada muestra.
- 15

Tabla 27. Densidad del receptor para ILT3 y relación E:T al inicio

Identificación del donante	Densidad del receptor para ILT3 (capacidad de unión de anticuerpos)	efector:diana al inicio Relación (E:T)
13273	23504	1:25
15443	7398	1:14
15802	5312	1:8

- [00393]** Para evaluar la actividad de las moléculas biespecíficas ILT3 × CD3, se sembraron muestras de médula ósea en un medio sin suero suplementado con suero bovino fetal (FBS) y una mezcla
- 20

exclusiva de factores de crecimiento. Se añadió ABX1446 a los cultivos en un ajuste de la dosis de 8 puntos (concentración final, $0,3 - 3 \times 10^{-6}$ mg/mL). Las condiciones de control incluyeron médula ósea tratada con PBS y médula ósea tratada con un anticuerpo de control de isotipo a 0,3 mg/mL. Las células se recolectaron a las 72 y 120 horas para evaluar el agotamiento de células tumorales y la activación de linfocitos T mediante citometría de flujo. Los resultados se normalizaron a los valores iniciales de cada donante. ABX1446 indujo un agotamiento de células tumorales dependiente de la dosis y una activación de linfocitos T en muestras de médula ósea con AML M5 primaria, como se muestra en la **Figura 41** y la **Figura 42** en un donante representativo (de 3 donantes evaluados).

[00394] Se inició un estudio similar para evaluar la actividad de las moléculas biespecíficas ILT3 × CD3 en cultivos primarios de muestras de mieloma múltiple ILT3⁺. Primero se analizaron muestras recientes de médula ósea de mieloma múltiple para determinar la expresión de ILT3, y las muestras ILT3⁺ (definidas como muestras en las que ≥ 60 % de los blastocitos de mieloma CD138⁺ son ILT3⁺) con suficiente cantidad de células y viabilidad se evaluaron en la plataforma de Native Tumor Microenvironment. ABX1446 indujo un agotamiento dependiente de la dosis de las células de mieloma múltiple CD138⁺ y una activación simultánea de los linfocitos T. Los resultados de un donante representativo se muestran en la **Figura 43** y la **Figura 44**.

SECUENCIAS

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
1	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz45G10	GFTFSDYGMH
2	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz45G10	YIFSGSSTIYYADTVKG
3	Región variable de cadena pesada CDR3 de Hz45G10	ADGRGAMDY
4	Región variable de cadena ligera CDR1 de Hz45G10	RASQDISKFLN
5	Región variable de cadena ligera CDR2 de	YTSRLHS

	Hz45G10	
6	Región variable de cadena ligera CDR3 de Hz45G10	QQGNTLPWT
7	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz45G10	GFTFSDY
8	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz45G10	FSGSST
9	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz45G10	YIFSGSSTIY
10	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz45G10	DYGMH
11	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz45G10	SDYGMH
12	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz45G10	WVAYIFSGSSTIY
13	Región variable de cadena pesada CDR3 de Hz45G10	ARADGRGAMD
14	Región variable de cadena ligera de Hz45G10 CDR1	SKFLNWY
15	Región variable de cadena ligera de Hz45G10 CDR2	LLIYYTSRLH

16	Región variable de cadena ligera de Hz45G10 CDR3	QQGNTLPW
17	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de Hz45G10 (VH)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWV RQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGT TVSS
18	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de Hz45G10 (VL)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKFLNWKYQK PGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQ PEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIK
19	Secuencia de aminoácidos de cadena pesada de Hz45G10	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWV RQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGT TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
20	Secuencia de aminoácidos de cadena ligera de Hz45G10	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISKFLNWKYQK PGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQ PEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
21	Región variable de cadena pesada CDR1	GFSLTSYGVH

	de 3A3	
22	Región variable de cadena pesada CDR2 de 3A3	VIWPGGTINYNSALMS
23	Región variable de cadena pesada CDR3 de 3A3	DKYDGGWFAY
24	Región variable de cadena ligera CDR1 de 3A3	KASQNVRTAVA
25	Región variable de cadena ligera CDR2 de 3A3	LASNRHT
26	Región variable de cadena ligera CDR3 de 3A3	LQHLNYPLT
27	Región variable de cadena pesada CDR1 de 3A3	GFSLTSY
28	Región variable de cadena pesada CDR2 de 3A3	WPGGT
29	Región variable de cadena pesada CDR2 de 3A3	VIWPGGTIN
30	Región variable de cadena pesada CDR1 de 3A3	SYGVH
31	Región variable de cadena pesada CDR1 de 3A3	TSYGVH
32	Región variable de cadena pesada CDR2	WLGVIWPGGTIN

	de 3A3	
33	Región variable de cadena pesada CDR3 de 3A3	ASDKYDGGWFA
34	Región variable de cadena ligera CDR1 de 3A3	RTAVAWY
35	Región variable de cadena ligera CDR2 de 3A3	ALIYLASNRH
36	Región variable de cadena ligera CDR3 de 3A3	LQHLYNYPL
37	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de 3A3	QVQLKESGPGLVAPSQSL SITCTVSGFSLTSYGVHWVRQ PPGKGLEWLGVIWPGGTINYSALMSRLSISKDNSKSQV FLKLSLQTDDTAMY YCASDKYDGGWFAYWGQGT LVTV SA
38	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de 3A3	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSITCKASQNVRTAVAWYQQ KPGQSPEALIYLASNRHTGVPDRFTGSGSGTDFSLISINV QSEDLADYFCLQHLYNYPLTFGSGTKLEIK
39	Región variable de cadena pesada CDR1 de 5A7	GFTFSSYGMS
40	Región variable de cadena pesada CDR2 de 5A7	TISGGGSYTNYPDSVKG
41	Región variable de cadena pesada CDR3 de 5A7	REWRMTLYAMDY
42	Región variable de cadena ligera CDR1 de	RASESVDSYGNSFMH

	5A7	
43	Región variable de cadena ligera CDR2 de 5A7	LTSNLES
44	Región variable de cadena ligera CDR3 de 5A7	QQNNEDPFT
45	Región variable de cadena pesada CDR1 de 5A7	GFTFSSY
46	Región variable de cadena pesada CDR2 de 5A7	SGGGSY
47	Región variable de cadena pesada CDR2 de 5A7	TISGGGSYTN
48	Región variable de cadena pesada CDR1 de 5A7	SYGMS
49	Región variable de cadena pesada CDR1 de 5A7	SSYGMS
50	Región variable de cadena pesada CDR2 de 5A7	WVATISGGGSYTN
51	Región variable de cadena pesada CDR3 de 5A7	ARREWRMTLYAMD
52	Región variable de cadena ligera CDR1 de 5A7	DSYGNSFMHWY
53	Región variable de cadena ligera CDR2 de	LLIYLTSNLE

	5A7	
54	Región variable de cadena ligera CDR3 de 5A7	QQNNEDPF
55	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de 5A7	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMSWVR QTPEKRLEWVATISGGGSYTNYPDSVKGRLTISRDNAAK NLYLEMSSLRSEDALYYCARREWRMTLYAMDYWGQG TSVTVSS
56	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de 5A7	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGNSFMHW YQQKPGQAPKLLIYLTSLNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTI DPVEADDAATYYCQQNNEDPFTFGSGTKLEIK
57	Región variable de cadena pesada CDR1 de 12A12	GYTFTDYNMD
58	Región variable de cadena pesada CDR2 de 12A12	YIYPNNGGTGYNQKFNS
59	Región variable de cadena pesada CDR3 de 12A12	SPYYDYVGSYAMDY
60	Región variable de cadena ligera CDR1 de 12A12	TASSSVSSSYLH
61	Región variable de cadena ligera CDR2 de 12A12	STSNLAS
62	Región variable de cadena ligera CDR3 de 12A12	HQYHRSPRT
63	Región variable de	GYTFTDY

	cadena pesada CDR1 de 12A12	
64	Región variable de cadena pesada CDR2 de 12A12	YPNNGG
65	Región variable de cadena pesada CDR2 de 12A12	YIYPNNGGTG
66	Región variable de cadena pesada CDR1 de 12A12	DYNMD
67	Región variable de cadena pesada CDR1 de 12A12	TDYNMD
68	Región variable de cadena pesada CDR2 de 12A12	WIGYIYPNNGGTG
69	Región variable de cadena pesada CDR3 de 12A12	ASSPYYDYVGSYAMD
70	Región variable de cadena ligera CDR1 de 12A12	SSSYLHWY
71	Región variable de cadena ligera CDR2 de 12A12	LWIYSTSNLA
72	Región variable de cadena ligera CDR3 de 12A12	HQYHRSPR
73	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de 12A12	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVK QSHGKSLEWIGYIYPNNGGTGYNQKFNSKATLTVDKSSS TAYMELHSLTSEDSAVYYCASSPYYDYVGSYAMDYWGQ GTSVTVSS

74	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de 12A12	QIVLTQSPAIMASASLGERVTMTCTASSSVSSSYLHWYQQ KPGSSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISS MEAEDAATYYCHQYHRSPRTFGGGTKLEIK
75	Región variable de cadena pesada CDR1 de 16C5	GYTFTDYNMD
76	Región variable de cadena pesada CDR2 de 16C5	YIYPSNGGTGYNQKFKS
77	Región variable de cadena pesada CDR3 de 16C5	VPYYDYLYYYAMDY
78	Región variable de cadena ligera CDR1 de 16C5	RASSSVSFMH
79	Región variable de cadena ligera CDR2 de 16C5	ATSNLAS
80	Región variable de cadena ligera CDR3 de 16C5	QQWSTNPYMYT
81	Región variable de cadena pesada CDR1 de 16C5	GYTFTDY
82	Región variable de cadena pesada CDR2 de 16C5	YPSNGG
83	Región variable de cadena pesada CDR2 de 16C5	YIYPSNGGTG
84	Región variable de cadena pesada CDR1	DYNMD

	de 16C5	
85	Región variable de cadena pesada CDR1 de 16C5	TDYNMD
86	Región variable de cadena pesada CDR2 de 16C5	WIGYIYPSNGGTG
87	Región variable de cadena pesada CDR3 de 16C5	ARVPYYDYLYYYAMD
88	Región variable de cadena ligera CDR1 de 16C5	SFMHWY
89	Región variable de cadena ligera CDR2 de 16C5	PWIYATSNLA
90	Región variable de cadena ligera CDR3 de 16C5	QQWSTNPYMY
91	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de 16C5	EVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNMDWVK QSHGKSLEWIGYIYPSNGGTGYNQKFKSKATLTVDKSSN TAYMELHSLTSEDSAVYYCARVPYYDYLYYYAMDYWGQ GTSVTVSS
92	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de 16C5	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMACRASSSVSFMHWYQQKP GSSPQPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVE AEDAATYYCQQWSTNPYMYTFGGGTKLEIK
93	Región variable de cadena pesada CDR1 de 48A6	GFTFSSYGMS
94	Región variable de cadena pesada CDR2 de 48A6	TISSGGTYTFYPDSVKG

95	Región variable de cadena pesada CDR3 de 48A6	RGWLLHYYAMDY
96	Región variable de cadena ligera CDR1 de 48A6	RPSESVDSFGNSFMH
97	Región variable de cadena ligera CDR2 de 48A6	LSSKLES
98	Región variable de cadena ligera CDR3 de 48A6	QQHNEDPFT
99	Región variable de cadena pesada CDR1 de 48A6	GFTFSSY
100	Región variable de cadena pesada CDR2 de 48A6	SSGGTY
101	Región variable de cadena pesada CDR2 de 48A6	TISSGGTYTF
102	Región variable de cadena pesada CDR1 de 48A6	SYGMS
103	Región variable de cadena pesada CDR1 de 48A6	SSYGMS
104	Región variable de cadena pesada CDR2 de 48A6	WVATISSGGTYTF
105	Región variable de cadena pesada CDR3 de 48A6	ARRGWLLHYYAMD

106	Región variable de cadena ligera CDR1 de 48A6	DSFGNSFMHWF
107	Región variable de cadena ligera CDR2 de 48A6	LLIYLSSKLE
108	Región variable de cadena ligera CDR3 de 48A6	QQHNEDPF
109	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de 48A6	EVQLVESGGDLMKPGGSLKLSCAASGFTFSSYGMSWVR QTPDKRLEWVATISSGGTYTFYPDSVKGRFTISRDNANK TLYLQMSSLKSEDTAMYYCARRGWLLHYYAMDYWGQG TSVTVSS
110	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de 48A6	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRPSESVDSEFGNSFMHW FQQKPGQPPKLLIYLSSKLESGVPARFSGSGSRTDFTLTI DPVEADDAATYYCQQHNEDPFTFGSGTKLEIK
111	Región variable de cadena pesada CDR1 de 53F10	GFTFSDYGMH
112	Región variable de cadena pesada CDR2 de 53F10	YISTGIITVYYADTVKG
113	Región variable de cadena pesada CDR3 de 53F10	ADGRGAMDY
114	Región variable de cadena ligera CDR1 de 53F10	RASQDISNFLN
115	Región variable de cadena ligera CDR2 de 53F10	YTSRLHS
116	Región variable de	QQGNTLPWT

	cadena ligera CDR3 de 53F10	
117	Región variable de cadena pesada CDR1 de 53F10	GFTFSDY
118	Región variable de cadena pesada CDR2 de 53F10	STGIIT
119	Región variable de cadena pesada CDR2 de 53F10	YISTGIITVY
120	Región variable de cadena pesada CDR1 de 53F10	DYGMH
121	Región variable de cadena pesada CDR1 de 53F10	SDYGMH
122	Región variable de cadena pesada CDR2 de 53F10	WVAYISTGIITVY
123	Región variable de cadena pesada CDR3 de 53F10	ARADGRGAMD
124	Región variable de cadena ligera CDR1 de 53F10	SNFLNWY
125	Región variable de cadena ligera CDR2 de 53F10	LLIYYTSRLH
126	Región variable de cadena ligera CDR3 de 53F10	QQGNTLPW
127	Secuencia de	EVQVVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSDYGMHWVR

	aminoácidos de región variable de cadena pesada de 53F10	QAPEKGLEWVAYISTGIITVYYADTVKGRFTMSRDNAKNT LFLQMTSLRSEDTAIYYCARADGRGAMDYWGQGTSVIVS S
128	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de 53F10	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNFLNWWYQQK PDGTVTLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLE QEDFATYFCQQGNTLPWTFGGGGTKLEIK
129	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz5A7.v5	GFTFSSYGMS
130	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz5A7.v5	TISGGGSYTNYPDSVKG
131	Región variable de cadena pesada CDR3 de Hz5A7.v5	REWRYTLYAMDY
132	Región variable de cadena ligera CDR1 de Hz5A7.v5	RASESVESYGSSFMH
133	Región variable de cadena ligera CDR2 de Hz5A7.v5	LTSNLES
134	Región variable de cadena ligera CDR3 de Hz5A7.v5	QQNNEDPFT
135	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz5A7.v5	GFTFSSY
136	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz5A7.v5	SGGGSY
137	Región variable de cadena pesada CDR2	TISGGGSYTN

	de Hz5A7.v5	
138	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz5A7.v5	SYGMS
139	Región variable de cadena pesada CDR1 de Hz5A7.v5	SSYGMS
140	Región variable de cadena pesada CDR2 de Hz5A7.v5	WVATISGGGSYTN
141	Región variable de cadena pesada CDR3 de Hz5A7.v5	ARREWRYTLYAMD
142	Región variable de cadena ligera CDR1 de Hz5A7.v5	ESYGSSFMHWY
143	Región variable de cadena ligera CDR2 de Hz5A7.v5	LLIYLTSNLE
144	Región variable de cadena ligera CDR3 de Hz5A7.v5	QQNNEDPF
145	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena pesada de Hz5A7.v5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWVR QAPGKGGLEWVATISGGGSYTNYPDSVKGRFTISRDNANK SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARREWRYTLYAMDYWGQG TTVTVSS
146	Secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera de Hz5A7.v5	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITTCRAESVESYGSSFMHW YQQKPGKAPKLLIYLTSNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLT SSLQPEDFATYYCQQNNEDPFTFGQGTKLEIK
147	Secuencia de aminoácidos de CD3 scFv-Fc	EVQLLES GGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW

		GQGTlVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSELVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLI GGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGCGTKLTVLGGGGSDKTHTCPPCPAP EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSPDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGSSFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
148	Secuencia de ácidos nucleicos de CD3 scFv-Fc	GAGGTGCAGCTGTTGGAATCTGGCGGAGGATTGGTTC AGCCTGGCGGCTCTCTGAAGCTGTCTTGCGCGCTTC TGGCTTCACCTTCAACACCTACGCCATGAACTGGGTCC GACAGGCCCCCTGGCAAATGCCTGGAATGGGTCGCCC GGATCAGATCCAAGTACAACAATTACGCCACCTACTAC GCCGACTCCGTGAAGGACCGGTTACCATCTCTCGGG ACGACTCCAAGAACACCGCCTACCTGCAGATGAACAA CCTCAAGACCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGTG CGGCACGGCAACTTCGGCAACTCCTATGTGTCTTGGT TTGCCTACTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACAGTTTC TAGCGGCGGAGGTGGAAGCGGAGGCGGAGGTAGTGG TGGTGGCGGATCTGAACTGGTGGTCACCCAAGAGCCT AGCCTGACAGTTTCTCCTGGCGGCACCGTGACACTGA CCTGTAGATCTTCTACCGGCGCTGTGACCACCTCCAA CTACGCCAATTGGGTGCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCT CCTAGAGGACTGATCGGCGGCACAAACAAGAGAGCCC CTGGAACCTCCTGCCAGGTTCTCTGGATCTCTGCTCGG CGGAAAGGCTGCTCTGACACTGTCTGGTGTCCAGCCT GAGGACGAGGCCGAGTATTACTGTGCCCTGTGGTACT CCAACCTGTGGGTGTTCGGCTGTGGCACCAAGCTGAC AGTTCTCGGAGGCGGCGGATCCGACAAGACCCATACT TGTCTCCATGTCCTGCTCCAGAGGCTGCTGGTGGCC CTTCCGTGTTTCTGTTCCCTCCAAAGCCTAAGGACACC CTGATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCGTGG

		TGGTCGATGTGTCTCACGAGGACCCAGAAGTGAAGTT CAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCATAACGCC AAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCT ACAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA TTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCC AACAAGGCCCTGCCTGCTCCTATCGAAAAGACCATCTC CAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTAC ACCTTGCCTCCAAGCCGGAAGAGATGACCAAGAACC AGGTGTCCCTGTCCTGTGCCGTGAAGGGCTTCTACCC TTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAG CCAGAGAACAACCTACAAGACAACCCCTCCTGTGCTGG ACTCCGACGGCTCATTCTTCCTGGTGTCTAAGCTGACT GTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTCT CCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTA CACACAGAAGTCCCTGAGCCTGTCTCCTGGCAAG
149	Secuencia de aminoácidos de CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGT LVT VSS
150	Secuencia de aminoácidos de CD3 VL	ELVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQ QKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLS GVQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGCGTKLTVL
151	Secuencia de aminoácidos de CD3 scFv	EVQLLESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGSELVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLI GGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEY YCALWYSNLWVFGCGTKLTVL
152	Región variable de cadena pesada CDR1 de CD3	GFTFNTYAMN
153	Región variable de	RIRSKYNNYATYYADSVKD

	cadena pesada CDR2 de CD3	
154	Región variable de cadena pesada CDR3 de CD3	HGNFGNSYVSWFAY
155	Región variable de cadena ligera CDR1 de CD3	RSSTGAVTTSNYAN
156	Región variable de cadena ligera CDR2 de CD3	GTNKRAP
157	Región variable de cadena ligera CDR3 de CD3	ALWYSNLWV
158	Secuencia de aminoácidos de CD3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFEFNKYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYETYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSLISYWAYW GQGT LVT VSS
159	Secuencia de aminoácidos de CD3 VL	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSSGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTKFGAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
160	Secuencia de aminoácidos de CD3 scFv	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFEFNKYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYETYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSLISYWAYW GQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCGSSSGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLI GGTKFGAPGTPARFSGSLLGGKAALTL SGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
161	Región variable de cadena pesada CDR1 de CD3	GFEFNKYAMN
162	Región variable de cadena pesada CDR2	RIRSKYNNYETYYADSVKD

	de CD3	
163	Región variable de cadena pesada CDR3 de CD3	HGNFGNSLISYWAY
164	Región variable de cadena ligera CDR1 de CD3	GSSSGAVTSGNYPN
165	Región variable de cadena ligera CDR2 de CD3	GTKFGAP
166	Región variable de cadena ligera CDR3 de CD3	VLWYSNRWV
167	Secuencia nucleotídica de cadena pesada de Hz45G10	gaggtgcagctggtgaatctggcggaggactggtcagcctggcggatctctga gactgtctgtgccgacggcctcacctcagcgattatggcatgcactgggtc cgacaggccctggcaaaggacttgagtggtcgctacatcttcagcggcag cagcaccatctactacgccgacacagtgaagggcagattcaccatcagccgg gacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaactcctgagagccgagg acaccgccgtgtactattgtgccagagccgatggcagaggcgctatggattattg gggccagggcaccctgggtaccgtttctagcgtagtaccaagggaccagcg tgttccctctggctcctagcagcaagctacaagcggaggaacagccgctctgg gctgcctggtaaggattactttcccgagcctgtgaccgtgtcctggaatagcgga gcactgacaagcggcgtgcacaccttccagctgtgctgcaaagcagcggcct gtactctctgagcagcgtggtcacagtccaagctctagcctgggcacccagac ctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagaag gtggaaccaagagctgcgacaagaccacacctgtcctccatgtcctgtcca gaagctgctggcggccctccgtgttctgttccctcaaagcctaaggacaccct gatgatcagcagaaccctgaagtgcctgcgtggtggtggtgtgtctcacga ggaccccgaagtgaagtcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacg ccaagaccaagcctagagaggaacagtacaacagcacctacagagtgggtgt ccgtgctgaccgtgctgcaccaggattggctgaacggcaaagagtacaagtgc aaggtgtccaacaaggccctgctgctcctatcgagaaaacatcagcaaggc caagggccagcctagggaaccccagggttacacactgcctccaagccgggaa

		gagatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtaagggcttctaccctt ccgatatcgccgtggaatgggagagcaatggccagcctgagaacaactacaa gacaacccctctgtgctggacagcgacggctcattcttctgtacagcaagctg acagtggacaagtccagatggcagcagggcaacgtgttcagctgcagcgtgat gcacgaggccctgcacaaccactacaccagaagtccctgagcctgtctcctg gcaaa
168	Secuencia nucleotídica de cadena ligera de Hz45G10	gacatccagatgaccagctctccatcctctctgtccgcctctgtgggacagagt gaccatcacctgtagagccagccaggatatctccaagttcctgaactggtatcag cagaagcccggcaaggcccctaagctgctgatctactacacctctcggctgcac tctggcgtgccctctagatttctggctccggctctggcaccgactttaccttacaat ctccagcctgcagcctgaggatatcgctacctacttctgccagaaggaacac cctgccttgacatttggcggaggcaccaagctggaaatcaagcgtacggtagg ctgcaccatctgtcttcatcttccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactg cctctgtgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgg aaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagc aggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagca aagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcaggg cctgagctcgcccgctacaaagagcttcaacaggggagagtgt
169	Cadena pesada de la región de unión anti-ILT3 de F13	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWV RQAPGKGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNANKN SLYLQMNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGGSEVQLV ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPG KGLEWVAYIFSGSSTIYYADTVKGRFTISRDNANKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARADGRGAMDYWGQGTLVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAA GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN

		YKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
--	--	--

REIVINDICACIONES

1. Un agente de unión que comprende una primera región de unión que se une a ILT3 humano y una segunda región de unión que se une a CD3 humana, en donde la región de unión a CD3 comprende un anti-CD3 scFv.
- 5 2. El agente de unión de la reivindicación 1, en donde la primera región de unión comprende un anti-ILT3 Fab.
3. El agente de unión de la reivindicación 1 o 2, en donde la afinidad de unión de la primera región de unión para ILT3 humano es mayor que la afinidad de unión de la segunda región de unión para CD3 humana.
- 10 4. El agente de unión de la reivindicación 3, la afinidad de unión de la primera región de unión para ILT3 humano es entre alrededor de 10 veces y alrededor de 100 veces mayor que la afinidad de unión de la segunda región de unión para CD3 humana.
5. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, comprende además una región Fc.
6. El agente de unión de la reivindicación 5, que comprende:
 - 15 (i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;
 - (ii) un segundo polipéptido que comprende un dominio VH de la primera región de unión, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y
 - (iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL de la primera región de unión y un

20 dominio CL,

en donde el dominio VH de la primera región de unión, el dominio CH1, el dominio VL de la primera región de unión y el dominio CL forman el anti-ILT3 Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.
7. El agente de unión de la reivindicación 6, en donde el primer polipéptido comprende una o más

25 mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.
8. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la segunda región de

30 unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149; y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150.
9. El agente de unión de la reivindicación 8, en donde, en la segunda región de unión,

el dominio VH de la segunda región de unión comprende la HCDR1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154; y el dominio VL de la segunda región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.

10. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde la primera región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

11. El agente de unión de la reivindicación 10, en donde, en la primera región de unión,

(a) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(b) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(c) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(d) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o

(e) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

12. El agente de unión de la reivindicación 10 u 11, en donde

(i) la primera región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; o

(ii) la primera región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

13. Un agente de unión que comprende una primera región de unión que se une a ILT3 humano y una segunda región de unión que se une a CD3 humana, en donde la segunda región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149 y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150.

14. El agente de unión de la reivindicación 13, en donde el dominio VH de la segunda región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154; y el dominio VL de la segunda región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155; la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156; y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157.

15. El agente de unión de la reivindicación 13 o 14, en donde la primera región de unión comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

16. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 13-15, en donde, en la primera región de unión,

(a) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(b) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8 y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(c) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(d) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5, y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o

(e) el dominio VH de la primera región de unión comprende la HCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11, la HCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12, y la HCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; y el dominio VL de la primera región de unión comprende la LCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14, la LCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15 y la LCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

17. El agente de unión de la reivindicación 15 o 16, en donde

(i) la primera región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 90 % de identidad

de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que tiene al menos un 95 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; o

(ii) la primera región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18; y la segunda región de unión comprende el dominio VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149, y el dominio VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150.

18. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 17, en donde la primera región de unión comprende un anti-ILT3 Fab.

19. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, en donde la segunda región de unión comprende un anti-CD3 scFv.

20. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 13 a 19, en donde el agente de unión comprende además una región Fc.

21. El agente de unión de la reivindicación 20, en donde el agente de unión comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende el dominio VH de la primera región de unión, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y

(iii) un tercer polipéptido que comprende el dominio VL de la primera región de unión y un dominio CL,

en donde el dominio VH de la primera región de unión, el dominio CH1, el dominio VL de la primera región de unión y el dominio CL forman el anti-ILT3 Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

22. El agente de unión de la reivindicación 21, en donde el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

23. El agente de unión de la reivindicación 21 o 22, en donde

(i) el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y el tercer polipéptido

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20, o

(ii) el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:19 y el tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

24. El agente de unión de las reivindicaciones 13 a 17, en donde la primera región de unión comprende dos anti-ILT3 Fab idénticos, y la segunda región de unión comprende un anti-CD3 scFv.

25. El agente de unión de la reivindicación 24, en donde el agente de unión comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende el anti-CD3 scFv, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende un primer dominio VH, un segundo dominio VH, un primer dominio CH1, un segundo dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3, en donde cada uno del primer y segundo dominio VH comprende el dominio VH de la primera región de unión;

(iii) un tercer polipéptido que comprende un primer dominio VL y un primer dominio CL, en donde el primer dominio VL comprende el dominio VL de la primera región de unión; y

(iv) un cuarto polipéptido que comprende un segundo dominio VL y un segundo dominio CL, en donde el segundo dominio VL comprende el dominio VL de la primera región de unión,

en donde el primer dominio VH y el primer dominio CH1 del segundo polipéptido y el primer dominio VL y el primer dominio CL del tercer polipéptido forman una primera región Fab, el segundo dominio VH y el segundo dominio CH1 del segundo polipéptido y el segundo dominio VL y el segundo dominio CL del cuarto polipéptido forman una segunda región Fab, y el primer dominio CH2, el segundo dominio CH2, el primer dominio CH3 y el segundo dominio CH3 forman la región Fc.

26. El agente de unión de la reivindicación 25, en donde el primer polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una cavidad diseñada, y el segundo polipéptido comprende una o más mutaciones de aminoácidos que forman una protuberancia diseñada, y en donde el primer polipéptido se dimeriza con el segundo polipéptido a través del posicionamiento de la protuberancia en la cavidad.

27. El agente de unión de la reivindicación 25 o 26, en donde

(i) el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, el tercer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y el cuarto polipéptido comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20; o

(ii) el primer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:147, el segundo polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:169, el tercer polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 y el cuarto polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20.

28. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 y 19-27, en donde el anti-CD3 scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

29. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 28, en donde el agente de unión es un anticuerpo humanizado.

30. Un agente de unión que comprende:

(i) un primer polipéptido que comprende un scFv que se une a CD3 humana, un primer dominio CH2 y un primer dominio CH3;

(ii) un segundo polipéptido que comprende un dominio VH que se une a ILT3 humano, un dominio CH1, un segundo dominio CH2 y un segundo dominio CH3; y

(iii) un tercer polipéptido que comprende un dominio VL que se une a ILT3 humano y un dominio CL,

en donde el scFv que se une a CD3 humana comprende un dominio VH que comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:149, y un dominio VL que comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:150; y

en donde el dominio VH que se une a ILT3 humano comprende una HCDR1, una HCDR2 y una HCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:17, y el dominio VL que se une a ILT3 humano comprende una LCDR1, una LCDR2 y una LCDR3 de la secuencia de aminoácidos indicada en la SEQ ID NO:18.

31. El agente de unión de la reivindicación 30, en donde:

(a) la HCDR1 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152, la HCDR2 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:153, la HCDR3 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:154, la LCDR1 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:155, la LCDR2 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:156, y la LCDR3 del scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:157; y

(b) en el dominio VH y dominio VL que se unen a ILT3 humano

(i) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(ii) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:8; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(iii) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:1; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:9; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6;

(iv) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:2; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5; y la LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:6; o

(v) la HCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:11; la HCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:12; la HCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:13; la LCDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14; la LCDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:15; y el LCDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:16.

32. El agente de unión de la reivindicación 30 o 31, en donde el dominio VH del scFv que se une a CD3 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:149 y el dominio VL del scFv que se une a CD3 humana comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:150; y el dominio VH que se une a ILT3 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:17; y el dominio VL que se une a ILT3 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:18.

33. El agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 30 a 32, en donde el scFv comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:151.

34. Un polinucleótido aislado que codifica el agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1

a 33.

35. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 34.

36. Una célula aislada que comprende el polinucleótido de la reivindicación 34 o el vector de la reivindicación 35.

5 37. Una célula aislada que produce el agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33.

38. Una composición farmacéutica que comprende el agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33, el polinucleótido aislado de la reivindicación 34, el vector de la reivindicación 35 o la célula aislada de la reivindicación 36 o 37, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 39. Un método para dirigir un linfocito T a una célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33 o la composición farmacéutica de la reivindicación 38.

40. El método de la reivindicación 39, en donde el linfocito T induce la destrucción de la célula cancerosa o tumoral que expresa ILT3.

15 41. El método de la reivindicación 40, en donde la célula cancerosa o tumoral es una célula cancerosa o tumoral hematológica.

42. El método de la reivindicación 41, en donde la célula tumoral o cancerosa hematológica se selecciona del grupo que consiste en una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de AML M4/M5, una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

20

25

43. El método de cualquiera de las reivindicaciones 39 a 42, en donde el linfocito T no induce la destrucción de una célula madre hematopoyética (HSC) normal.

44. Un método para activar un linfocito T, que comprende poner en contacto el linfocito T con una cantidad eficaz del agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33 o la composición farmacéutica de la reivindicación 38, en donde la segunda región de unión se une al linfocito T.

30

45. El método de la reivindicación 44, en donde el linfocito T es un linfocito T virgen.

46. El método de la reivindicación 44 o 45, en donde el linfocito T se expande policlonalmente a partir de una población de PBMC.

47. Un método para destruir o inhibir la proliferación de una célula cancerosa o tumoral que expresa

ILT3, que comprende poner en contacto la célula cancerosa o tumoral con el agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33 o la composición farmacéutica de la reivindicación 38.

48. El método de la reivindicación 47, en donde el agente de unión activa un linfocito T.

49. El método de la reivindicación 48, en donde el linfocito T activado induce la destrucción de la célula cancerosa o tumoral.

50. El método de cualquiera de las reivindicaciones 47 a 49, en donde la célula cancerosa o tumoral comprende una célula cancerosa o tumoral hematológica.

51. El método de la reivindicación 50, en donde la célula tumoral o cancerosa hematológica se selecciona del grupo que consiste en una célula de leucemia mielógena aguda (AML), una célula de AML M4/M5, una célula de leucemia mielomonocítica crónica (CMML), una célula de leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), una célula de leucemia linfocítica crónica (CLL), una célula de linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), una célula de linfoma de células del manto (MCL), una célula de mieloma múltiple (MM), una célula de síndrome mielodisplásico (MDS), una célula de linfoma de Hodgkin, una célula de linfoma linfoplasmocitoide (LPL), una célula de linfoma folicular, una célula de linfoma de Burkitt, una célula de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), una célula de linfoma de la zona marginal o una célula de linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

52. Un método para tratar un cáncer o un tumor que expresa ILT3 en un sujeto, que comprende administrar una cantidad eficaz del agente de unión de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33 o la composición farmacéutica de la reivindicación 38 al sujeto.

53. El método de la reivindicación 52, en donde el cáncer o tumor es un cáncer o tumor hematológico.

54. El método de la reivindicación 53, en donde el cáncer o tumor hematológico se selecciona del grupo que consiste en leucemia mielógena aguda (AML), AML M4/M5, leucemia mielomonocítica crónica (CMML), leucemia linfocítica aguda de linfocitos B (B-ALL), leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), linfoma de células del manto (MCL), mieloma múltiple (MM), síndrome mielodisplásico (MDS), linfoma de Hodgkin, linfoma linfoplasmocitoide (LPL), linfoma folicular, linfoma de Burkitt, neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), linfoma de la zona marginal o linfoma de tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT).

RESUMEN

La presente divulgación se refiere a agentes de unión a $ILT3 \times CD3$, composiciones que los comprenden y métodos de uso de estos. La presente divulgación también se refiere a polinucleótidos y vectores que codifican dichos agentes de unión a $ILT3 \times CD3$.