

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO
(Modificaciones Voluntarias)

1. Un anticuerpo aislado que se fija específicamente a E-selectina humana, que comprende al menos uno de los siguientes:

(a) una región determinante de la complementariedad de la cadena liviana 1 (LCDR-1) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, una LCDR-2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3, una LCDR-3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4, una región determinante de la complementariedad de la cadena pesada 1 (HCDR-1) que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, una HCDR-2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una HCDR-3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10;

(b) las secuencias de aminoácidos de HCDR-1, HCDR-2 y HCDR-3 como se establecen en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y las secuencias de aminoácidos de LCDR-1, LCDR-2 y LCDR-3 como se establecen en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;

(c) las secuencias de aminoácidos de LCDR-1, LCDR-2 y LCDR-3 como se establecen en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el No. de acceso de ATCC PTA-126530, y las secuencias de aminoácidos de HCDR-1, HCDR-2 y HCDR-3 como se establecen en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el N.º de acceso de ATCC PTA-126529;

(d) un dominio variable de la cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 98 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11, y un dominio variable de la cadena liviana (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 98 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;

(e) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5;

(f) un VH que comprende la secuencia de aminoácidos como se establece en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el N.º de acceso de ATCC PTA-126529, y un VL que comprende la secuencia de aminoácidos como se establece en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el N.º de acceso de ATCC PTA-126530;

(g) una cadena pesada (HC) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 98 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 13, y una cadena liviana (LC) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 98 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 1;

(h) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 13, y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y

(i) una HC que comprende la secuencia de aminoácidos como se establece en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el No. de acceso de ATCC PTA-126529, y una LC que comprende la secuencia de aminoácidos como se establece en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el No. de acceso de ATCC PTA-126530.

2. Un anticuerpo aislado que se fija específicamente a E-selectina humana, que comprende:

una secuencia de aminoácidos de la VL que comprende una LCDR-1, una LCDR-2 y una LCDR-3 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; y

una secuencia de aminoácidos de la VH que comprende una HCDR-1, una HCDR-2 y una HCDR-3 de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11.

3. El anticuerpo aislado de acuerdo con la Reivindicación 2, que comprende una región constante de la cadena pesada (CH) del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 o SEQ ID NO: 16, y una región constante de la cadena liviana (CL) del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.

4. Un anticuerpo aislado que se fija específicamente a E-selectina humana, que comprende una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 13.

5. Un anticuerpo aislado que se fija específicamente a E-selectina humana, que comprende

una VL del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 98 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y que comprende una LCDR-1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2, una LCDR-2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, y una LCDR-3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4; y

una VH del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 98 % idéntica a SEQ ID NO: 11 y que comprende una HCDR-1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8, una HCDR-2 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9, y una HCDR-3 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10.

6. Un anticuerpo aislado que se fija específicamente a E-selectina humana, que comprende una HC del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto depositado en ATCC y que tiene el número de acceso PTA-126529, y una LC del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto depositado en ATCC y que tiene el número de acceso PTA-126530.

7. El anticuerpo aislado de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1-6, que comprende un dominio Fc humano seleccionado del grupo que consiste en un dominio Fc de IgA₁, IgA₂, IgD, IgE, IgM, IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄, una región constante de la cadena liviana seleccionada de kappa o lambda, y una combinación de estos.

8. El anticuerpo aislado de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7, en donde el isotipo de cadena pesada del anticuerpo es IgG1, en donde la región constante de la cadena liviana es una cadena liviana kappa, o ambos.

9. El anticuerpo aislado de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, en donde el anticuerpo se fija a E-selectina humana o de *Macaca fascicularis* con una K_D de alrededor de 200 nM a alrededor de 2 nM.

10. El anticuerpo aislado de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 9 que se fija específicamente a E-selectina humana y muestra al menos una característica detectable seleccionada de las siguientes:

(i) se fija a E-selectina humana con una K_D de 200 nM o menos, según se mide, opcionalmente, mediante SPR;

(ii) se fija a E-selectina de *Macaca fascicularis* con una K_D de 200 nM o menos, según se mide, opcionalmente, mediante SPR;

(iii) se fija con una EC₅₀ de 50 nM o menos a la E-selectina expresada en la superficie celular, según se mide opcionalmente mediante FAC;

(iv) se fija con una EC₅₀ de 2 nM o menos a la E-selectina humana soluble, según se mide opcionalmente mediante ELISA;

(v) neutraliza la fijación con una EC₅₀ de 2 nM o menos de un ligando sialil-Lewis A a la E-selectina humana soluble, según se mide opcionalmente mediante un ensayo de competencia Alphasia;

(vi) se fija con una IC₅₀ de alrededor de 1 nM a alrededor de 3 nM a la E-selectina humana soluble libre en suero humano;

(vii) neutraliza la fijación con una IC₅₀ de 100 nM o menos de un ligando sialil-Lewis A a la E-selectina humana soluble, según se mide opcionalmente mediante ELISA de competencia en condiciones estáticas;

(viii) neutraliza la fijación con una IC₅₀ de 50 nM o menos de un ligando sialil-Lewis A a la E-selectina humana expresada en la superficie celular, según se mide opcionalmente mediante ELISA de competencia en condiciones estáticas;

(ix) inhibe la adhesión con una IC₅₀ de 100 nM o menos de células que expresan un ligando de E-selectina a la E-selectina humana expresada en la superficie celular, según se mide opcionalmente en condiciones estáticas;

(x) inhibe la adhesión con una IC₅₀ de 100 nM o menos de células que expresan un ligando de E-selectina a la E-selectina humana expresada en la superficie celular, según se mide opcionalmente en condiciones de flujo fisiológico;

(xi) inhibe la adhesión con una IC₅₀ de alrededor de 6,17 nM a alrededor de 18,66 nM de células sanguíneas de pacientes con anemia falciforme (Sickle Cell disease – SCD) a la E-selectina humana soluble, según se mide opcionalmente en condiciones de flujo fisiológico;

(xii) se fija a al menos un residuo de aminoácido de la E-selectina humana seleccionado de: T7, E8, A9, M10, T11, P46, S47, Y48, N82, N83, Q85, E88, E92, Y94, R97, N105, E107, R108, S110, K111, K112 y K113;

(xiii) tiene una media de semivida de alrededor de 14,4 días (345 horas) tras la administración IV a una dosis de 10 mg/kg;

(xiv) tiene una media de semivida de alrededor de 21,5 días (518 horas) tras la administración SC a una dosis de alrededor de 3 mg/kg;

(xv) tiene una viscosidad de 33,4 cP a 185,7 mg/ml cuando se mide a 25 °C mediante, opcionalmente, un método Anton Parr;

(xvi) exhibe propiedades de formulación adecuadas en el comercio, que incluyen un alto grado de estabilidad térmica y una agregación mínima a una concentración alta; y

(xvii) exhibe expresión y pureza reproducibles en condiciones de producción a gran escala.

11. Un anticuerpo aislado que compite por la fijación a la E-selectina humana con al menos un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 10.

12. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11.

13. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende al menos una de las siguientes:

(a) un ácido nucleico que codifica la VH, VL o ambas de un anticuerpo que se une específicamente a E-selectina humana, en donde el ácido nucleico comprende la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 136, la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 137 o ambas;

(b) un ácido nucleico que codifica la HC, LC o ambas de un anticuerpo que se une específicamente a la E-selectina humana, en donde el ácido nucleico comprende la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 138 o SEQ ID NO: 206, la secuencia de ácidos nucleicos de SEQ ID NO: 139, o ambas; y

(c) un ácido nucleico que codifica la VH, VL o ambas de un anticuerpo que se une específicamente a la E-selectina humana, en donde el ácido nucleico comprende la secuencia de ácidos nucleicos del inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el No. de acceso PTA-126529, la secuencia de ácidos nucleicos del inserto del plásmido depositado en ATCC y que tiene el No. de acceso PTA-126530, o ambas.

14. Un vector que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la Reivindicación 12 o

13.

15. Una célula huésped que comprende el vector de acuerdo con la Reivindicación 14.

16. Un método para elaborar un anticuerpo que comprende cultivar la célula huésped de acuerdo con la Reivindicación 15 en una condición en donde el anticuerpo es expresado por la célula huésped.

17. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 11, y un portador o excipiente aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

18. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 17, que comprende i) un anticuerpo que comprende una HC del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una LC del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, ii) un anticuerpo que comprende una HC del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una LC del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, o iii) ambos.

ANEXO EXPLICATIVO DE LAS MODIFICACIONES

- Se eliminan las Reivindicaciones 9, 10, 18 y 22 a 40;
- Se elimina la expresión “*o fragmento de fijación al antígeno de este*” de las nuevas Reivindicaciones 1, 6 a 12 y 16 a 18;
- Se eliminan los antiguos numerales (b) a (g), (j) y (n) de la Reivindicación 1;
- Se introducen las expresiones “*de la VL*” y “*de la VH*” en la Reivindicación 2;
- Se reemplaza la expresión “*como específica*” por “*de*” en la Reivindicación 2;
- Se introduce la expresión “*SEQ ID NO:*” en las Reivindicaciones 3 y 4;
- Se reemplaza la expresión “*consiste en*” por “*comprende*” en la Reivindicación 4;
- Se limita la Reivindicación 5 a anticuerpos aislados que comprenden ciertos VL, LCDR, VH y HCDR;
- Se elimina la expresión “*y/o*” en las Reivindicaciones 7 y 8;
- Se introduce la expresión “*o una combinación de estos*” en la Reivindicación 7;
- Se introduce la expresión “*o ambos*” en la Reivindicación 8;
- Se reemplaza la expresión “*un*” por “*el*” en la nueva Reivindicación 10;
- Se introduce la expresión “*humana*” en la nueva Reivindicación 10;
- Se eliminan los antiguos numerales (iv) y (v) de la nueva Reivindicación 10;
- Se limita la nueva Reivindicación 13 a ácidos nucleicos que codifican los VH, VL, HC y/o LC de un anticuerpo que se une específicamente a la E-selectina humana, en donde los ácidos nucleicos comprenden sus respectivas secuencias;
- Se reemplaza la expresión “*dicho*” por “*el*” en la nueva Reivindicación 16;
- Se reemplaza la expresión “*codificada por*” por “*que comprende*” en la nueva Reivindicación 18;
- Se reemplazan las expresiones “*cadena pesada*” y “*cadena liviana*” por “*HC*” y “*LC*”, respectivamente, en la nueva Reivindicación 18;
- Se ajustan las dependencias y la numeración de manera acorde.