

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 899 616**

51 Int. Cl.:

**G01N 33/569** (2006.01)

**G01N 33/574** (2006.01)

**G01N 33/68** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2018 PCT/US2018/029897**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.11.2018 WO18201014**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2018 E 18725722 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.09.2021 EP 3628070**

54 Título: **Polipéptidos del dominio extracelular del CD80 para su uso en aumentar los linfocitos T de memoria central**

30 Prioridad:

**28.04.2017 US 201762491479 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**14.03.2022**

73 Titular/es:

**FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC. (100.0%)  
111 Oyster Point Boulevard  
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**BRENNAN, THOMAS;  
SENNINO, BARBARA;  
BARBEE, SUSANNAH D. y  
JEFFRY, URSULA**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 899 616 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Polipéptidos del dominio extracelular del CD80 para su uso en aumentar los linfocitos T de memoria central

## CAMPO DE LA INVENCIÓN

5 La presente solicitud se refiere a polipéptidos del dominio extracelular (ECD) del CD80 (B7-1) y a moléculas de fusión del ECD del CD80 y a sus usos en aumentar los linfocitos T de memoria central y en métodos de tratamiento, tales como métodos de tratamiento del cáncer. En un primer aspecto, la invención se refiere a un método de determinación de la actividad de una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 en un sujeto que comprende determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. En un aspecto adicional, la invención se refiere a un método de detección de la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o la proliferación de linfocitos T de memoria central en un sujeto que comprende (a) proporcionar una muestra obtenida del sujeto después de que se haya administrado una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 al sujeto y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en la muestra, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. En otro aspecto más, la invención se refiere a una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un sujeto que comprende (a) administrar al sujeto dicha molécula de fusión del ECD del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano; y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración. En otro aspecto, la invención se refiere a una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un sujeto que comprende administrar al sujeto dicha molécula de fusión del ECD del CD80, donde (a) la frecuencia de linfocitos T de memoria central se ha administrado en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración y/o (b) la proliferación de linfocitos T de memoria central se ha detectado en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración.

## ANTECEDENTES

30 El CD80, también conocido como B7-1, pertenece a la familia B7 de proteínas unidas a la membrana involucradas en la regulación inmunitaria mediante el suministro de respuestas coestimuladoras o cohibidoras a través de sus actividades de unión a ligandos. En 2005, Liu Aihong et al. publicaron un estudio que proporcionaba información sobre la combinación del tratamiento con la proteína de fusión B7-Fc y la terapia reductora de células Treg en pacientes que padecen cáncer. Otros miembros de la familia de proteínas B7 incluyen el CD86 (B7-2), el ligando coestimulador inducible (ICOS-L), el ligando de muerte programada 1 (PD-L1; B7-H1), el ligando de muerte programada 2 (PD-L2; B7-H2), B7-H3 y B7-H4. El CD80 es una proteína transmembranaria expresada en la superficie de los linfocitos T, los linfocitos B, las células dendríticas y los monocitos, y se une a los receptores CD28, CTLA4 (CD152) y PD-L1. (Véase, p. ej., M. Collins et al., Genome Biol. 6:223 doi:10.1186/bg-2005-6-6-223 (2005).) El CD80 y CD86 y sus receptores CTLA4 y CD28 funcionan como un sistema coestimulador-coinhibidor, por ejemplo, para controlar la activación, expansión, diferenciación y supervivencia de los linfocitos T. La interacción del CD80 y CD86 con CD28 produce señales coestimuladoras que conducen, por ejemplo, a la activación de respuestas de linfocitos T. El CD80, a su vez, estimula la regulación positiva de CTLA4, que, al unirse al CD80, actúa para suprimir la respuesta de linfocitos T previamente desencadenada por las interacciones CD80/CD28. Este ciclo de retroalimentación permite un control fino de las respuestas inmunitarias. (Véase, p. ej., R. Peach et al., J. Biol. Chem. 270 (36):21181-87 (1995).)

45 También se ha demostrado que el CD80 interactúa con otro miembro de la familia B7, el PD-L1, con una afinidad similar a la del CD28, mientras que el CD86 no interactúa con el PD-L1. (Véase, p. ej., P. Greaves & J. G. Gribbon, Blood 121(5):734-44 (2013).) El PD-L1 es uno de los dos ligandos para la proteína de la muerte programada 1 (PD-1), que también está involucrada en la regulación de los linfocitos T. Específicamente, la expresión de la PD-1 en los linfocitos T puede inducirse después de la activación de los linfocitos T, y la unión de la PD-1 al PD-L1 regula negativamente la actividad de los linfocitos T al promover la inactivación de los linfocitos T. (Véase, p. ej., S. Ostrand-Rosenberg, J. Immunol. 193:3835-41 (2014).) Muchas células tumorales expresan el PD-L1 en su superficie, lo que puede conducir a interacciones PD-1/PD-L1 y la inhibición de las respuestas de linfocitos T contra el tumor. Esta observación ha conducido al desarrollo de inhibidores de la interacción PD-1/PD-L1 como terapias contra el cáncer diseñadas para estimular respuestas inmunes naturales contra tumores en pacientes. (Véase Id.) La unión del CD80 al PD-L1 puede servir como un mecanismo alternativo para bloquear la interacción PD-1/PD-L1 y prevenir la inhibición de las respuestas de linfocitos T en el sitio de un tumor. (Véase Id. en 3839.) Al mismo tiempo, sin embargo, también podrían estar disponibles niveles aumentados del CD80 para la unión al CD28 y la inducción de CTLA4, mediante lo cual se induce o inhibe respuestas de linfocitos T.

Algunas formas solubles del CD80 también pueden funcionar para bloquear la activación de CTLA4 al bloquear la actividad endógena del CD80. (Véase Id.)

5 Los inventores de la presente han demostrado que la administración de un polipéptido de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 a macacos cangrejeros indujo la expansión y proliferación de linfocitos T de memoria central CD4+ y CD8+ de manera dependiente de la dosis. Los linfocitos T de memoria son un subconjunto de linfocitos T que se dirigen a antígenos particulares debido a encuentros previos con esos antígenos. La presencia de linfocitos T de memoria puede permitir una respuesta inmunitaria más fuerte y más rápida al antígeno si se vuelve a encontrar en el futuro. Los linfocitos T de memoria central (Tcm) son un subconjunto de linfocitos T de memoria que pueden retener algunas propiedades similares a las de las células madre. (Véase Y. D. Mahnke, Eur. J. Immunol. 43:2797-2809 (2013).) Se ha demostrado que 10 subconjuntos particulares de Tcm presentan actividad contra determinados cánceres en estudios murinos, por ejemplo, montando una respuesta de recuperación de antígenos tumorales activa cuando los ratones se vuelven a presentar con antígenos tumorales encontrados previamente. (Véase Klebanoff et al., PNAS 102(27):9571-76 (2005). Los estudios clínicos sobre el ipilimumab, un anticuerpo anti-CTLA4, también han mostrado alteraciones en las poblaciones de linfocitos T en pacientes que responden al tratamiento con anticuerpos. (J. Felix et al., Oncoimmunology 5(7): e1136045 (2016); J. S. Weber, J. Immunother. 35(1):89-97 (2012)).

#### SUMARIO DE LA INVENCION

La invención se define por la materia de las reivindicaciones como se concedió. En la presente, se proporcionan métodos para determinar la actividad de una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 en un sujeto que comprenden determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. 20

En la presente, también se proporcionan métodos para detectar la frecuencia o proliferación de linfocitos T de memoria central en un sujeto que comprenden determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. 25

En la presente, también se proporcionan métodos para determinar la actividad de una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 en un sujeto que comprenden (a) proporcionar una muestra obtenida del sujeto después de la administración de una molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de los linfocitos T de memoria central en la muestra, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. 30

En la presente, también se proporcionan métodos de detección de la frecuencia o proliferación de linfocitos T de memoria central en un sujeto que comprenden (a) proporcionar una muestra obtenida del sujeto después de que se haya administrado una molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en la muestra, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. 35

En determinados casos, los métodos comprenden además designar un sujeto que va a ser administrado con la molécula de fusión del ECD del CD80 después de determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en la muestra. En determinados casos, el sujeto tiene cáncer. 40

En la presente, también se proporcionan una molécula de fusión del ECD del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden (a) administrar al sujeto una molécula de fusión del ECD del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano; y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración. 45

En determinados casos, el uso en este método comprende además determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80.

50 En determinados casos, el uso en este método comprende determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central, pero no detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central. En determinados casos, el uso en este método

comprende detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central, pero no determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central. En determinados casos, el uso en este método comprende determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central.

En determinados casos, la frecuencia se determina mediante citometría de flujo.

- 5 En determinados casos, la proliferación se detecta mediante citometría de flujo. En determinados casos, la proliferación se detecta mediante la medición de la expresión de Ki67. En determinados casos, la proliferación se detecta en una muestra obtenida al menos 7 días después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80.

- 10 En la presente, también se proporciona una molécula de fusión del ECD del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto que comprenden administrar al sujeto una molécula de fusión del ECD del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano, donde (a) la frecuencia de linfocitos T de memoria central se ha determinado en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración y/o (b) la proliferación de linfocitos T de memoria central se ha detectado en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración.

- 15 En determinados casos, se ha determinado la frecuencia de linfocitos T de memoria central, pero no se ha detectado la proliferación de linfocitos T de memoria central. En determinados casos, se ha detectado la proliferación de linfocitos T de memoria central, pero no se ha determinado la frecuencia de linfocitos T de memoria central. En determinados casos, se ha determinado la frecuencia de linfocitos T de memoria central y se ha detectado la proliferación de linfocitos T de memoria central.

En determinados casos, la frecuencia se ha determinado mediante citometría de flujo.

- 20 En determinados casos, la proliferación se ha detectado mediante citometría de flujo. En determinados casos, la proliferación se ha determinado mediante la medición de la expresión de Ki67. En determinados casos, la proliferación se ha detectado en una muestra obtenida al menos 7 días después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80.

- 25 En determinados casos, la muestra es una muestra de sangre. En determinados casos, la muestra es una muestra de plasma.

En determinados casos, los linfocitos T de memoria central son linfocitos CD95+ y CD28+. En determinados casos, los linfocitos T de memoria central son linfocitos T de memoria central CD4+. En determinados casos, los linfocitos T de memoria central son linfocitos T de memoria central CD8+. En determinados casos, los linfocitos T de memoria central son linfocitos T de memoria central CD4+ y CD8+.

- 30 En determinados casos, la muestra obtenida después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 se obtiene al menos una semana después de la administración. En determinados casos, la muestra obtenida después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 se obtiene al menos dos semanas después de la administración. En determinados casos, la muestra obtenida después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 se obtiene al menos un mes después de la administración.

- 35 En determinados casos, el polipéptido del ECD del CD80 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5. En determinados casos, el polipéptido del ECD del CD80 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:3. En determinados casos, el polipéptido del ECD del CD80 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:4.

En determinados casos, el dominio Fc de IgG1 humano comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14.

- 40 En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20. En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21.

- 45 En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende 10-60 moléculas de ácido siálico (SA). En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende 15-40 moléculas de SA. En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende 15-25 moléculas de SA. En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende 15-30 moléculas de SA.

5 En determinados casos, el cáncer es un tumor sólido. En determinados casos, el cáncer se selecciona dentro del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer pulmonar no microcítico, melanoma, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de ovario, cáncer pancreático, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, cáncer de vejiga y cáncer de endometrio. En determinados casos, el cáncer es recurrente o progresivo después de una terapia seleccionada dentro del grupo que consiste en cirugía, quimioterapia, radioterapia, y una combinación de estas.

10 En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 se administra en combinación con un inhibidor de la muerte celular programada 1 (PD-1)/ligando de muerte celular programada 1 (PD-L1). En determinados casos, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo. En determinados casos, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-1. En determinados casos, el anticuerpo anti-PD-1 comprende las CDR de cadena pesada y cadena ligera de nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab. En determinados casos, el anticuerpo anti-PD-1 comprende las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab. En determinados casos, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab. En determinados casos, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En determinados casos, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las CDR de cadena pesada y cadena ligera de avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559. En determinados casos, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559. En determinados casos, el anticuerpo anti-PD-L1 es avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559. En determinados casos, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es una molécula de fusión PD-1. En determinados casos, la molécula de fusión es AMP-224. En determinados casos, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es AUR-012.

20 En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 se administra en combinación con una vacuna contra el cáncer. En determinados casos, la vacuna contra el cáncer es una vacuna personalizada contra el cáncer. En determinados casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 y la vacuna contra el cáncer se administran de manera simultánea o en secuencia.

25 La presente descripción abarca moléculas de fusión del ECD del CD80 que comprenden un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en métodos para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar una molécula de fusión del ECD del CD80, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 se administren en una cantidad eficaz para aumentar la cantidad de linfocitos T de memoria central en el sujeto. En algunas realizaciones, la cantidad de linfocitos T de memoria central aumenta durante al menos una semana, al menos dos semanas o al menos un mes. En algunas realizaciones, la cantidad de linfocitos T de memoria central se determina en una muestra de sangre o plasma del sujeto. En algunas realizaciones, los linfocitos T de memoria central son linfocitos CD95+ y CD28+. La presente descripción también abarca moléculas de fusión del ECD del CD80 que comprenden un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en métodos para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesite, que comprende: (a) administrar al sujeto una molécula de fusión del ECD del CD80; y (b) determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80. En algunas realizaciones, el uso en los métodos comprende además determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80. También se desvelan métodos que comprenden además aumentar la dosis o frecuencia de la molécula de fusión de la molécula de fusión del ECD del CD80 que se administra al sujeto si la concentración de linfocitos T de memoria central en la muestra obtenida después de la administración no es mayor que la concentración de linfocitos T de memoria central en la muestra obtenida antes de la administración. En este contexto, la muestra para determinar la concentración de linfocitos T de memoria central puede ser una muestra de sangre o plasma. Los linfocitos T de memoria central pueden ser linfocitos CD95+ y CD28+.

45 La presente descripción también abarca métodos para aumentar la cantidad de linfocitos T de memoria central en un sujeto que lo necesite, que comprenden administrar un dominio extracelular (ECD) del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80, donde el ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 se administren en una cantidad eficaz para aumentar la cantidad de linfocitos T de memoria central en el sujeto. En algunas realizaciones, la cantidad de linfocitos T de memoria central aumenta durante al menos una semana, al menos dos semanas o al menos un mes. En ella, el número de linfocitos T de memoria central se puede determinar en una muestra de sangre o plasma del sujeto. Los linfocitos T de memoria central pueden ser linfocitos CD95+ y CD28+.

50 La presente descripción también abarca un método para aumentar la cantidad de linfocitos T de memoria central en un sujeto que lo necesite, que comprende: (a) administrar al sujeto un dominio extracelular (ECD) del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80; y (b) determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 o el ECD del CD80. En algunas realizaciones, el método comprende además determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 o el ECD del CD80. En ella, el método comprende además aumentar la dosis o frecuencia de la molécula de fusión del ECD del CD80 o el ECD

del CD80 que se administra al sujeto si la concentración de linfocitos T de memoria central en la muestra obtenida después de la administración no es mayor que la concentración de linfocitos T de memoria central en la muestra obtenida antes de la administración. Se desvela que la muestra para determinar la concentración de linfocitos T de memoria central es una muestra de sangre o plasma y los linfocitos T de memoria central son linfocitos CD95+ y CD28+.

5 La presente descripción también abarca métodos para detectar linfocitos T de memoria central en un sujeto, por ejemplo, un sujeto con cáncer, donde los métodos comprenden, por ejemplo, determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de un ECD del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto.

10 En algunos de los métodos anteriores, se puede administrar un ECD del CD80. En otros métodos, se administra una molécula de fusión del ECD del CD80. En cualquier caso, en algunas realizaciones, la parte del ECD del CD80 de la molécula de fusión comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de entre (a) lo SEQ ID NO:3, (b) SEQ ID NO: 4, y (c) SEQ ID NO: 5.

15 Donde se administra una molécula de fusión del ECD del CD80, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un compañero de fusión que comprende un dominio Fc, donde el dominio Fc es un dominio Fc de IgG1 humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14. En algunas realizaciones, la molécula de fusión CD80 ECD comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO:21.

En algunas realizaciones de los métodos anteriores, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende 10-60 mol de ácido siálico (SA) por mol de proteína, 15-40 mol de SA por mol de proteína, 15-25 mol de SA por mol de proteína, o 15-30 mol SA por mol de proteína.

20 En los métodos de la presente, en algunas realizaciones, la molécula de fusión del ECD del CD80 se administran en combinación con un inhibidor de la muerte celular programada 1 (PD-1)/ligando de muerte celular programada 1 (PD-L1). En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 comprende las CDR de cadena pesada y cadena ligera de nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 comprende las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las CDR de cadena pesada y cadena ligera de avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es una molécula de fusión PD-1. En algunas realizaciones, la molécula de fusión es AMP-224. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es AUR-012.

35 En algunas realizaciones de los métodos de la presente, el sujeto tiene cáncer y el cáncer del sujeto es un tumor sólido. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona de entre cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer pulmonar no microcítico, melanoma, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de ovario, cáncer pancreático, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, cáncer de vejiga y cáncer de endometrio. En algunas realizaciones, el cáncer es recurrente o progresivo después de una terapia seleccionada de entre cirugía, quimioterapia, radioterapia, o una combinación de estas.

40 En algunas realizaciones de los métodos anteriores, la molécula de fusión del ECD del CD80 se administra en combinación con una vacuna contra el cáncer. En algunas realizaciones, la vacuna contra el cáncer es una vacuna personalizada contra el cáncer. La molécula de fusión del ECD del CD80 y la vacuna contra el cáncer se pueden administrar de manera simultánea o en secuencia.

45 En la presente, también se describen composiciones de vacunas contra el cáncer que comprenden al menos un antígeno específico del tumor o antígeno asociado al tumor y un dominio extracelular (ECD) del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80. Se describe que las composiciones de vacunas comprenden además células inmunitarias autólogas de un sujeto a tratar con la vacuna y que las células inmunitarias autólogas comprenden células presentadoras de antígenos.

Se ha de comprender que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada que sigue son solamente ilustrativas y explicativas, y no se pretende que restrinjan las reivindicaciones. Los títulos de las secciones que se usan en la presente cumplen solamente fines de organización y no debe interpretarse que limiten la materia descrita.

50

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Fig. 1** muestra que hay un aumento en la frecuencia de linfocitos T CD4+ de memoria central (Tcm CD4+) en macacos cangrejeros después del tratamiento con ECD del CD80-Fc humano (hCD80 ECD-Fc) en dosis de 10 y 50 mg/kg, pero no después del tratamiento con una dosis de 1 mg/kg o con un control de vehículo. Los datos se presentan como el porcentaje (%) de la frecuencia previa a la dosis de linfocitos T CD4+ de memoria central. Las líneas verticales punteadas representan el momento en que se administró hCD80 ECD-Fc.

La **Fig. 2** muestra cambios en la frecuencia de los linfocitos T CD8+ de memoria central (Tcm CD8+) en macacos cangrejeros después del tratamiento con 1, 10 o 50 mg/kg de hCD80 ECD-Fc o control de vehículo. Los datos se presentan como el porcentaje (%) de la frecuencia previa a la dosis de linfocitos T CD8+ de memoria central. Las líneas verticales punteadas representan el momento en que se administró hCD80 ECD-Fc.

La **Fig. 3** muestra cambios en la proliferación de los linfocitos T CD4+ de memoria central (Ki67+) después del tratamiento con 1, 10 o 50 mg/kg de hCD80 ECD-Fc o control de vehículo. Los datos se presentan como el porcentaje (%) de la frecuencia previa a la dosis promedio de linfocitos T CD4+ de memoria central. Las líneas verticales punteadas representan el momento en que se administró hCD80 ECD-Fc. La frecuencia máxima de Tcm CD4+ Ki67+ ocurrió 7 días después de la primera dosis.

La **Fig. 4** muestra cambios en la proliferación de los linfocitos T CD8+ de memoria central (Ki67+) después del tratamiento con 1, 10 o 50 mg/kg de hCD80 ECD-Fc o control de vehículo. Los datos se presentan como el porcentaje (%) de la frecuencia previa a la dosis promedio de los linfocitos T CD8+ de memoria central y se expresan como un valor medio +/- la desviación estándar. Las líneas verticales punteadas representan el momento en que se administró hCD80 ECD-Fc. La frecuencia máxima de Tcm CD8+ Ki67+ ocurrió 7 días después de la segunda dosis.

DESCRIPCIÓN DE REALIZACIONES PARTICULARES

Definiciones

A menos que se defina de otro modo, los términos científicos y técnicos usados en conexión con la presente invención tendrán los significados que entienden comúnmente los expertos en la técnica. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos en singular incluirán el plural y los términos en plural incluirán el singular.

En la presente solicitud, el uso de "o" significa "y/o", salvo que se indique lo contrario. En el contexto de una reivindicación con dependencia múltiple, el uso de "o" hace referencia a más de una reivindicación independiente o dependiente precedente solamente en la alternativa. Además, términos tales como "elemento" o "componente" abarcan tanto elementos como componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se indique específicamente lo contrario.

Tal como se utilizan de acuerdo con la presente descripción, se comprenderá que los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, tendrán los siguientes significados:

Los términos "**polipéptido**" y "**proteína**" se usan indistintamente para hacer referencia a un polímero de residuos de aminoácidos, y no se limitan a una longitud mínima. Esos polímeros de residuos de aminoácidos pueden contener residuos de aminoácidos naturales o no naturales, e incluyen, de modo no taxativo, péptidos, oligopéptidos, dímeros, trímeros y multímeros de residuos de aminoácidos. Tanto las proteínas de longitud completa como sus fragmentos están abarcados por la definición. Los términos también incluyen modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, por ejemplo, glicosilación, sialilación, acetilación, fosforilación, y similares. Además, a los efectos de la presente invención, un "**polipéptido**" hace referencia a una proteína que incluye modificaciones, tales como eliminaciones, adiciones y sustituciones (generalmente de naturaleza conservadora), a la secuencia natural, siempre que la proteína mantenga la actividad deseada. Estas modificaciones pueden ser deliberadas, por ejemplo, a través de la mutagénesis dirigida al sitio, o pueden ser accidentales, por ejemplo, a través de mutaciones de hospedadores que producen las proteínas o los errores debido a la amplificación por PCR.

Una "**molécula de fusión**", tal como se usa en la presente, hace referencia a una molécula compuesta por dos o más moléculas diferentes que no aparecen juntas en la naturaleza y se unen de manera covalente o no covalente para formar una nueva molécula. Por ejemplo, las moléculas de fusión pueden estar compuestas por un polipéptido y un polímero tal como PEG, o por dos polipéptidos diferentes. Una "**proteína de fusión**" hace referencia a una molécula de fusión compuesta por dos o más polipéptidos que no se encuentran en una sola molécula en la naturaleza.

- 5 Un "**dominio extracelular del CD80**" o "**ECD del CD80**" hace referencia a un polipéptido de dominio extracelular del CD80 humano, lo cual incluye variantes naturales y modificadas de este. Una "**molécula de fusión del ECD del CD80**" hace referencia a una molécula que comprende un ECD del CD80 y un compañero de fusión tal como un dominio Fc, albúmina o PEG. El compañero de fusión puede unirse de manera covalente, por ejemplo, al extremo N o C del ECD del CD80 o en una ubicación interna.
- Tal como se usa en la presente, los "**linfocitos T de memoria central**" o "**Tcm**" hacen referencia a linfocitos T, que incluyen linfocitos T CD4+ o CD8+, que se identifican como CD95+ y CD28+, CD95+ y CD27+ o como CD95+, CD28+ y CD27+.
- 10 Las expresiones "**proteína de muerte celular programada 1**" y las abreviaturas "**PD-1**" y "**PD1**" hacen referencia a la proteína PD-1 humana madura de longitud completa, que es un receptor inmunoinhibidor perteneciente a la familia CD28.
- 15 Las expresiones "**ligando 1 de muerte celular programada 1**" y "**PD-L1**" (PD-L1; B7 homólogo-1; B7-H1; o CD274) y "**ligando de muerte programada 2**" (PD-L2; B7-DC; o CD273) son dos ligandos de glucoproteínas de la superficie celular para la PD-1 que regulan negativamente la activación de los linfocitos T y la secreción de citocinas al unirse a la PD-1. El término "**PD-L1**", tal como se usa en la presente, hace referencia a un PD-L1 humano maduro de longitud completa, a menos que se indique específicamente lo contrario.
- 20 La expresión "**agente estimulado del sistema inmunitario**", tal como se usa en la presente, hace referencia a una molécula que estimula el sistema inmunitario al actuar como un agonista de una molécula inmunoestimuladora, incluida una molécula coestimuladora, o al actuar como un antagonista de una molécula inhibidora del sistema inmunitario, incluida una molécula coinhibidora. Un agente estimulador del sistema inmunitario puede ser biológico, tal como un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, otra proteína o vacuna, o puede ser un fármaco de molécula pequeña. Una "**molécula estimuladora del sistema inmunitario**" incluye un receptor o ligando que actúa para mejorar, estimular, inducir o "**activar**" de otro modo una respuesta inmunitaria. Las moléculas estimuladoras del sistema inmunitario, tal como se definen en la presente, incluyen moléculas coestimuladoras. Una "**molécula inhibidora del sistema inmunitario**" incluye un receptor o ligando que actúa para reducir, inhibir, suprimir o "**desactivar**" de otro modo una respuesta inmunitaria. Las moléculas inhibidoras del sistema inmunitario, tal como se definen en la presente, incluyen moléculas coinhibidoras. Esas moléculas estimuladoras del sistema inmunitario e inhibidoras del sistema inmunitario pueden ser, por ejemplo, receptores o ligandos que se encuentran en las células inmunitarias, tales como los linfocitos T, o que se encuentran en las células involucradas en la inmunidad innata, tales como los linfocitos NK.
- 25 La expresión "**inhibidor de PD-1/PD-L1**" hace referencia a un resto que interrumpe la vía de señalización de PD-1/PD-L1. En algunas realizaciones, el inhibidor inhibe la vía de señalización de PD-1/PD-L1 mediante la unión a la PD-1 y/o al PD-L1. En algunas realizaciones, el inhibidor también se une al PD-L2. En algunas realizaciones, un inhibidor de PD-1/PD-L1 bloquea la unión de la PD-1 al PD-L1 y/o PD-L2. Los ejemplos no taxativos de inhibidores de PD-1/PD-L1 incluyen anticuerpos que se unen a la PD-1; anticuerpos que se unen al PD-L1; proteínas de fusión, tales como AMP-224; y polipéptidos, tales como AUR-012.
- 30 La expresión "**anticuerpo que inhibe la PD-1**" hace referencia a un anticuerpo que se une a la PD-1 o se une al PD-L1 y por lo tanto inhibe la señalización de PD-1 y/o PD-L1. En algunas realizaciones, un anticuerpo que inhibe la PD-1 se une a la PD-1 y bloquea la unión del PD-L1 y/o PD-L2 a la PD-1. En algunas realizaciones, un anticuerpo que inhibe la PD-1 se une al PD-L1 y bloquea la unión de la PD-1 al PD-L1. Un anticuerpo que inhibe la PD-1 que se une al PD-L1 puede denominarse un anticuerpo anti-PD-L1. Un anticuerpo que inhibe la PD-1 que se une a la PD-1 puede denominarse un anticuerpo anti-PD-1.
- 35 Con respecto a los ECD del CD80 y a las moléculas de fusión del ECD del CD80, la expresión "**bloquea la unión de**" un ligando, y sus variantes gramaticales, hacen referencia a la capacidad de inhibir una interacción entre CD80 y un ligando de CD80, tal como CD28, CTLA4 o PD-L1. Esa inhibición puede producirse a través de cualquier mecanismo, incluso mediante la competencia de ECD del CD80 o moléculas de fusión del ECD del CD80 por la unión con los ligandos del CD80.
- 40 Con respecto a los anticuerpos anti-PD-1 y los péptidos o las moléculas de fusión a la PD-1, la expresión "**bloquea la unión de**" un ligando, tal como PD-L1, y sus variantes gramaticales, se usan para hacer referencia a la capacidad de inhibir la interacción entre la PD-1 y un ligando de la PD-1, tal como el PD-L1. Esa inhibición puede producirse a través de cualquier mecanismo, incluida la interferencia directa con la unión al ligando, por ejemplo, debido a la superposición de sitios de unión en la PD-1, y/o cambios de conformación en la PD-1 inducidos por el anticuerpo que alteran la afinidad del ligando, etc., o, en el caso de un péptido o una molécula de fusión a la PD-1, mediante la competencia por la unión con un ligando de la PD-1.
- 45
- 50

- 5 La "**afinidad**" o "**afinidad de unión**" hacen referencia a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un único sitio de unión de una molécula (p. ej., un polipéptido) y su compañero de unión (p. ej., un ligando). En algunas realizaciones, la "afinidad de unión" hace referencia a la afinidad de unión intrínseca, que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (p. ej., polipéptido y ligando). La afinidad de una molécula X con respecto a su compañero Y puede representarse de manera general mediante la constante de disociación ( $K_d$ ).
- 10 El término "**anticuerpo**", tal como se usa en la presente, hace referencia a una molécula que comprende al menos la región de determinación de la complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés) 1, CDR2 y CDR3 de una cadena pesada y al menos la CDR1, CDR2 y CDR3 de una cadena ligera, donde la molécula es capaz de unirse al antígeno. El término "anticuerpo" incluye, de modo no taxativo, fragmentos que son capaces de unirse a antígenos, tales como Fv, Fv de cadena simple (scFv), Fab, Fab' y (Fab')<sub>2</sub>. El término "anticuerpo" también incluye, de modo no taxativo, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados y anticuerpos de diversas especies, tales como ratones, seres humanos, macacos cangrejeros, etc.
- 15 En algunas realizaciones, un anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera. En algunas realizaciones, un anticuerpo comprende al menos una cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada y al menos una parte de una región constante de cadena pesada, y al menos una cadena ligera que comprende una región variable de cadena ligera y al menos una parte de una región constante de cadena ligera. En algunas realizaciones, un anticuerpo comprende dos cadenas pesadas, donde cada cadena pesada comprende una región variable de cadena pesada y al menos una parte de una región constante de cadena pesada, y dos cadenas ligeras, donde cada cadena ligera comprende una región variable de cadena ligera y al menos una parte de una región constante de cadena ligera. Tal como se usa en la presente, un Fv de cadena simple (scFv), o cualquier otro anticuerpo que comprende, por ejemplo, una única cadena de polipéptidos que comprende las seis CDR (tres CDR de cadena pesada y tres CDR de cadena ligera) se considera que tiene una cadena pesada y una cadena ligera. En algunas de esas realizaciones, la cadena pesada es la región del anticuerpo que comprende las tres CDR de cadena pesada y la cadena ligera en la región del anticuerpo que comprende las tres CDR de cadena ligera.
- 20 La expresión "**región variable de cadena pesada**" hace referencia a una región que comprende HVR1 de cadena pesada, marco (FR) 2, HVR2, FR3 y HVR3. En algunas realizaciones, una región variable de cadena pesada también comprende al menos una parte de un FR1 y/o al menos una parte de un FR4.
- 25 La expresión "**región constante de cadena pesada**" hace referencia a una región que comprende al menos tres dominios constantes de cadena pesada, C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub> y C<sub>H3</sub>. Los ejemplos no taxativos de regiones constantes de cadena pesada incluyen  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\alpha$ . Los ejemplos no taxativos de regiones constantes de cadena pesada también incluyen  $\epsilon$  y  $\mu$ . Cada región constante pesada corresponde a un isotipo de anticuerpo. Por ejemplo, un anticuerpo que comprende una región constante  $\gamma$  es un anticuerpo de IgG, un anticuerpo que comprende una región constante  $\delta$  es un anticuerpo de IgD, y un anticuerpo que comprende una región constante  $\alpha$  es un anticuerpo de IgA. Además, un anticuerpo que comprende una región constante  $\mu$  es un anticuerpo de IgM, y un anticuerpo que comprende una región constante  $\epsilon$  es un anticuerpo de IgE.
- 30 Determinados isotipos pueden subdividirse de manera adicional en subclases. Por ejemplo, los anticuerpos de IgG incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos de IgG1 (que comprenden una región constante  $\gamma_1$ ), IgG2 (que comprende una región constante  $\gamma_2$ ), IgG3 (que comprende una región constante  $\gamma_3$ ) e IgG4 (que comprende una región constante  $\gamma_4$ ); anticuerpos de IgA incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos de IgA1 (que comprenden una región constante  $\alpha_1$ ) e IgA2 (que comprenden una región constante  $\alpha_2$ ); y anticuerpos de IgM incluyen, de modo no taxativo, IgM1 e IgM2.
- 35 La expresión "**cadena pesada**" hace referencia a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena pesada, con o sin una secuencia líder. En algunas realizaciones, una cadena pesada comprende al menos una parte de una región constante de cadena pesada. La expresión "cadena pesada de longitud completa" hace referencia a un polipéptido que comprende una región variable de cadena pesada y una región constante de cadena pesada, con o sin una secuencia líder.
- 40 La expresión "**región variable de cadena ligera**" hace referencia a una región que comprende HVR1 de cadena ligera, marco (FR) 2, HVR2, FR3 y HVR3. En algunas realizaciones, una región variable de cadena ligera también comprende un FR1 y/o un FR4.
- 45 La expresión "**región constante de cadena ligera**" hace referencia a una región que comprende un dominio constante de cadena ligera, C<sub>L</sub>. Los ejemplos no taxativos de regiones constantes de cadena ligera incluyen  $\lambda$  y  $\kappa$ .
- 50 La expresión "**cadena ligera**" hace referencia a un polipéptido que comprende al menos una región variable de cadena ligera, con o sin una secuencia líder. En algunas realizaciones, una cadena ligera comprende al menos una parte de una región constante de cadena ligera. La expresión "cadena ligera de longitud completa" hace referencia a un polipéptido que comprende una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera, con o sin una secuencia líder.

La expresión "**región hipervariable**" o "**HVR**" hace referencia a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que son de secuencia hipervariable y/o forman bucles estructuralmente definidos ("bucles hipervariables"). Por lo general, los anticuerpos de cuatro cadenas naturales comprenden seis HVR; tres en el V<sub>H</sub> (H1, H2, H3), y tres en el V<sub>L</sub> (L1, L2, L3). Las HVR generalmente comprenden residuos de aminoácidos de los bucles hipervariables y/o de las **regiones de determinación de la complementariedad** ("**CDR**"), donde estas últimas tienen la variabilidad de secuencia más alta y/o están involucradas en el reconocimiento de antígenos. Los ejemplos de bucles hipervariables se producen en los residuos de aminoácidos 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3). (Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987).) Los ejemplos de CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3) se producen en residuos de aminoácidos 24-34 de L1, 50-56 de L2, 89-97 de L3, 31-35B de H1, 50-65 de H2 y 95-102 de H3. (Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.<sup>a</sup> ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, MD (1991)). Las expresiones regiones hipervariables (HVR) y regiones de determinación de la complementariedad (CDR) hacen referencia a partes de la región variable que forman las regiones de unión a antígenos.

Un "**anticuerpo quimérico**", tal como se usa en la presente, hace referencia a un anticuerpo que comprende al menos una región variable de una primera especie (tal como ratones, ratas, macacos cangrejeros, etc.) y al menos una región constante de una segunda especie (tal como seres humanos, macacos cangrejeros, etc.). En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable de ratón y al menos una región constante humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable de macaco cangrejero y al menos una región constante humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo quimérico comprende al menos una región variable de rata y al menos una región constante de ratón. En algunas realizaciones, todas las regiones variables de un anticuerpo quimérico son de una primera especie y todas las regiones constantes del anticuerpo quimérico son de una segunda especie.

Un "**anticuerpo humanizado**", tal como se usa en la presente, hace referencia a un anticuerpo en el que al menos un aminoácido en una región marco de una región variable no humana se ha remplazado con el aminoácido correspondiente de una región variable humana. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado comprende al menos una región constante humana o un fragmento de esta. En algunas realizaciones, un anticuerpo humanizado es un Fab, un scFv, un (Fab)<sub>2</sub>, etc.

Un "**anticuerpo humano**", tal como se usa en la presente, hace referencia a anticuerpos producidos en seres humanos, anticuerpos producidos en animales no humanos que comprenden genes de inmunoglobulina humana, tales como XenoMouse®, y anticuerpos seleccionados mediante el uso de métodos in vitro, tales como la expresión en fagos, donde el repertorio de anticuerpos se basa en una secuencia de inmunoglobulina humana.

La expresión "**secuencia líder**" hace referencia a una secuencia de residuos de aminoácidos ubicados en el extremo N de un polipéptido que facilita la secreción de un polipéptido de una célula de mamífero. Se puede escindir una secuencia líder tras la exportación del polipéptido de la célula de mamífero, mediante la formación de una proteína madura. Las secuencias líderes pueden ser naturales o sintéticas, y pueden ser heterólogas u homólogas con respecto a la proteína a la que están unidas. Los ejemplos no taxativos de secuencias líderes también incluyen secuencias líderes de proteínas heterólogas. En algunas realizaciones, un anticuerpo carece de una secuencia líder. En algunas realizaciones, un anticuerpo comprende al menos una secuencia líder, que puede seleccionarse de entre secuencias líderes de anticuerpos naturales y secuencias líderes heterólogas.

El término "**aislado/a**", tal como se usa en la presente, hace referencia a una molécula que se ha separado de al menos algunos de los componentes con los que se encuentra normalmente en la naturaleza. Por ejemplo, se hace referencia a un polipéptido como "aislado" cuando se encuentra separado de al menos algunos de los componentes de la célula en la que se produjo. Cuando una célula secreta un polipéptido después de la expresión, la separación física del sobrenadante que contiene el polipéptido de la célula que lo produjo se considera que "aisla" el polipéptido. De manera similar, se hace referencia a un polinucleótido como "aislado" cuando no forma parte del polinucleótido más grande (tal como, por ejemplo, ADN genómico o ADN mitocondrial, en el caso de un polinucleótido de ADN) en el que normalmente se encuentra en la naturaleza, o está separado de al menos algunos de los componentes de la célula en la que se produjo, por ejemplo, en el caso de un polinucleótido de ARN. Por lo tanto, se puede hacer referencia a un polinucleótido de ADN contenido en un vector dentro de una célula hospedadora como "aislado" siempre que ese polinucleótido no se encuentre en ese vector en la naturaleza.

El término "**reducir**" o "**reduce**" cuando se aplica a un parámetro tal como el volumen tumoral significa reducir el nivel de ese parámetro de una manera observable y medible. En algunas realizaciones, la reducción puede ser estadísticamente significativa en comparación con un tratamiento o control alternativo.

El término "**aumentar**" o "**expandir**", cuando se aplica a un parámetro tal como un tipo de célula, tal como un tipo de linfocito T, significa aumentar la concentración (es decir, expandir o proliferar en cantidad dentro de un área determinada

tal como dentro de una muestra de tumor o dentro de un volumen de sangre o plasma). En algunas realizaciones, la expansión puede ser estadísticamente significativa en comparación con un tratamiento o control alternativo.

5 Los términos "**sujeto**" y "**paciente**" se usan indistintamente en la presente para hacer referencia a un ser humano. En algunas realizaciones, también se proporcionan métodos de tratamiento de otros mamíferos, que incluyen, de modo no taxativo, roedores, simios, felinos, caninos, equinos, bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, animales de laboratorio mamíferos, animales de granja mamíferos, animales deportivos mamíferos y mascotas mamíferos.

10 Los términos "**resistente**" o "**sin respuesta**", cuando se usan en el contexto del tratamiento con un agente terapéutico, significan que el sujeto muestra una respuesta disminuida o falta de respuesta a una dosis estándar del agente terapéutico, en relación con la respuesta del sujeto a la dosis estándar del agente terapéutico en el pasado, o en relación con la respuesta esperada de un sujeto similar con un trastorno similar a la dosis estándar del agente terapéutico. Por lo tanto, en algunas realizaciones, un sujeto puede ser resistente al agente terapéutico, aunque el sujeto no haya recibido previamente el agente terapéutico, o el sujeto puede desarrollar resistencia al agente terapéutico después de haber respondido al agente en una o más ocasiones anteriores.

15 La "**muestra**", tal como se usa en la presente, hace referencia a una composición que se obtiene o deriva de un sujeto que contiene una entidad celular y/u otra entidad molecular caracterizada, cuantificada y/o identificada, por ejemplo, en función de características físicas, bioquímicas, químicas y/o fisiológicas. Un ejemplo de muestra es una muestra de tejido.

20 La expresión "**muestra de tejido**" hace referencia a una colección de células similares obtenidas de un tejido de un sujeto. La fuente de la muestra de tejido puede ser tejido sólido proveniente, por ejemplo, de un aspirado o una biopsia o una muestra de un tejido u órgano recién extraída, congelada y/o conservada; sangre o cualquier constituyente de la sangre; fluidos corporales, tales como líquido cefalorraquídeo, líquido amniótico, líquido peritoneal, líquido sinovial o líquido intersticial; células de cualquier momento de la gestación o el desarrollo del sujeto. En algunas realizaciones, una muestra de tejido es una muestra de tejido de biopsia sinovial y/o una muestra de líquido sinovial. En algunas realizaciones, una muestra de tejido es una muestra de líquido sinovial. La muestra de tejido también puede ser células cultivadas o principales o líneas celulares. Opcionalmente, la muestra de tejido se obtiene de un tejido/órgano enfermo. La muestra de tejido puede contener compuestos que no se entremezclen de manera natural con el tejido tales como conservantes, anticoagulantes, soluciones amortiguadoras, fijadores, nutrientes, antibióticos, o similares. Una "muestra de control" o un "tejido de control", como se usa en la presente, hace referencia a una muestra, una célula o un tejido que se obtiene de una fuente que se sabe o se cree que no está afectada por la enfermedad por la cual el sujeto está en tratamiento.

30 A efectos de la presente, una "**sección**" de una muestra de tejido hace referencia a una parte de una muestra de tejido, tal como un corte delgado de tejido o de células de una muestra de tejido sólida.

35 El término "**cáncer**" se usa en la presente para hacer referencia a un grupo de células que presentan niveles anormalmente altos de proliferación y crecimiento. Un cáncer puede ser benigno (al que también se hace referencia como tumor benigno), premaligno o maligno. Las células cancerosas pueden ser células cancerosas sólidas (es decir, "**tumores sólidos**") o pueden ser células cancerosas hematológicas (p. ej., linfáticas o leucémicas). La expresión "**crecimiento del cáncer**" se usa en la presente para hacer referencia a la proliferación o el crecimiento de una o más células que comprenden un cáncer que conduce a un aumento correspondiente en el tamaño o la extensión del cáncer.

40 Los ejemplos de cánceres incluyen, de modo taxativo, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los ejemplos no taxativos más particulares de esos cánceres incluyen cáncer de células escamosas, cáncer pulmonar microcítico, cáncer hipofisario, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer pulmonar no microcítico (lo cual incluye el cáncer pulmonar no microcítico de células escamosas), adenocarcinoma pulmonar, carcinoma escamoso pulmonar, cáncer peritoneal, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer cerebral, 45 cáncer de endometrio, cáncer testicular, colangiocarcinoma, carcinoma de vesícula biliar, cáncer gástrico, melanoma y diversos tipos de cánceres de cabeza y cuello (incluido el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello).

50 "**Tratamiento**", tal como se usa en la presente, hace referencia al tratamiento terapéutico, por ejemplo, donde el objeto es reducir la gravedad o la progresión lenta de la afección o el trastorno patológico objetivo, así como, por ejemplo, donde el objeto es inhibir la recurrencia de la afección o el trastorno. En determinadas realizaciones, el término "**tratamiento**" abarca cualquier administración o aplicación de un agente terapéutico para la enfermedad en un paciente, e incluye inhibir o enlentecer la enfermedad o la progresión de la enfermedad; aliviar parcial o totalmente la enfermedad, por ejemplo, al provocar la regresión, o restauración o reparación de una función perdida, faltante o defectuosa; estimular un proceso ineficiente; o provocar que la meseta de la enfermedad tenga una gravedad reducida. El término "**tratamiento**" también

incluye reducir la gravedad de cualquier característica fenotípica y/o reducir la incidencia, el grado o la probabilidad de esa característica. Quienes necesitan tratamiento incluyen a quienes ya tienen el trastorno, así como a quienes presentan riesgo de recurrencia del trastorno o aquellas personas en las que se ha de prevenir o enlentecer la recurrencia del trastorno.

- 5 El término "**eficacia**", tal como se usa en la presente, puede determinarse a partir de uno o más parámetros tales como la supervivencia o la supervivencia sin enfermedad durante un período de tiempo tal como 1 año, 5 años o 10 años, así como parámetros tales como la reducción en crecimiento de uno o más tumores en un sujeto. Los parámetros de farmacocinética, tales como la biodisponibilidad y los parámetros subyacentes, tales como la tasa de depuración, también pueden afectar la eficacia. Por lo tanto, una "eficacia mejorada" (es decir, una mejora en la eficacia) puede deberse a una mejora en los parámetros farmacocinéticos, así como a una mejora de la potencia, y puede medirse mediante la comparación de las tasas de depuración y el crecimiento tumoral en animales de laboratorio o en seres humanos, así como parámetros tales como la supervivencia, la tasa de recurrencia o la supervivencia sin enfermedad.

- 15 La expresión "**cantidad eficaz**" o "**cantidad con eficacia terapéutica**" hace referencia a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar una enfermedad o un trastorno en un sujeto. En determinadas realizaciones, una cantidad eficaz hace referencia a una cantidad eficaz, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para alcanzar el resultado profiláctico o terapéutico deseado. Una cantidad con eficacia terapéutica de un ECD del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80 puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del fármaco de provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad con eficacia terapéutica abarca una cantidad con la cual cualquier efecto tóxico o perjudicial del fármaco se ve superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos. En algunas realizaciones, la expresión "cantidad eficaz" hace referencia a una cantidad del fármaco eficaz para tratar el cáncer.

La administración "**en combinación con**" uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como un agente estimulador del sistema inmunitario o una vacuna contra el cáncer, incluye la administración simultánea (concurrente) y consecutiva (en secuencia) en cualquier orden.

- 25 Un "**portador farmacéuticamente aceptable**" hace referencia a un relleno, diluyente, material de encapsulación, auxiliar de formulación o portador no tóxico sólido, semisólido o líquido convencional en la técnica para usar con un agente terapéutico que en su conjunto comprenden una "**composición farmacéutica**" para la administración a un sujeto. Un vehículo farmacéuticamente aceptable no es tóxico para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas y es compatible con otros ingredientes de la formulación. El portador farmacéuticamente aceptable es adecuado para la formulación empleada. Por ejemplo, si el agente terapéutico ha de administrarse por vía oral, el portador puede ser una cápsula de gel. Si el agente terapéutico se ha de administrar por vía subcutánea, lo ideal es que el portador no sea irritable para la piel y no provoque reacciones en el sitio de inyección.

- 35 El término "**antígeno**" se usa para denotar un compuesto químico tal como un polipéptido que es reconocido específicamente por un anticuerpo. Tal como se usa en la presente, un "**antígeno con especificidad tumoral**" hace referencia a un antígeno expresado solo en cantidades significativas por células tumorales, tales como un antígeno de polipéptido mutante correspondiente a una proteína que se encuentra mutada en células tumorales. Tal como se usa en la presente, un "**antígeno asociado a un tumor**" hace referencia a un antígeno correspondiente a un polipéptido sobreexpresado por células tumorales y que también puede ser expresado por células normales del mismo tejido o de un tejido diferente.

- 40 La expresión "**vacuna contra el cáncer**", tal como se usa en la presente, hace referencia a una composición de tratamiento que se administra para promover una respuesta inmunitaria específica contra antígenos tumorales. En algunas realizaciones, la vacuna contra el cáncer puede comprender antígenos con especificidad tumoral y/o asociados a un tumor o células que presenten antígenos con especificidad tumoral y/o asociados a un tumor para promover una respuesta inmunitaria contra esos antígenos. Esa composición de vacuna también puede comprender otros agentes que promuevan una respuesta inmunitaria tales como agentes estimuladores del sistema inmunitario.

- 45 La expresión "**vacuna personalizada contra el cáncer**" o "**vacuna personalizada**" hace referencia a una vacuna contra el cáncer que comprende células o antígenos extraídos del paciente que se haya de tratar y opcionalmente expandidos o amplificadas ex vivo antes de la reintroducción en el paciente. Por ejemplo, una vacuna contra el cáncer personalizada puede incluir antígenos con especificidad tumoral del paciente o puede incluir células inmunitarias u otras células hematopoyéticas que se hayan extraído del paciente y a las que se les haya permitido proliferar ex vivo.

Ejemplos de dominios extracelulares de CD80 y moléculas de fusión del dominio extracelular

La molécula de fusión del ECD del CD80 usada en la invención reivindicada comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano. Otras moléculas se describen para información solo. En la presente, se proporcionan métodos de tratamiento del cáncer con moléculas de fusión del ECD del CD80. Los ECD del CD80, por ejemplo, pueden comprender los ECD de la isoforma 1, la isoforma 2 y la isoforma 3 del CD80 humano (véanse las SEQ ID NOs:1-3). Los ECD del CD80 pueden comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5.

Las moléculas de fusión del ECD del CD80 pueden comprender compañeros de fusión tales como polímeros, polipéptidos, restos lipófilos y grupos succinilo. Los ejemplos de compañeros de fusión de polipéptidos incluyen, de modo no taxativo, albúmina sérica y un dominio Fc de IgG. Otros ejemplos de compañeros de fusión de polímeros incluyen, de modo no taxativo, polietilenglicol, lo cual incluye polietilenglicoles con cadenas ramificadas y/o rectas. Las secuencias de aminoácidos de determinados ejemplos de dominios Fc se muestran en las SEQ ID NOs:9-16 en la presente.

La molécula de fusión del ECD del CD80 puede carecer de un péptido señal. La molécula de fusión del ECD del CD80 puede incluir al menos un péptido señal, que puede seleccionarse de entre un péptido señal del CD80 natural (SEQ ID NO:7 o los aminoácidos 1-34 de la SEQ ID NO: 1) y/o un péptido señal heterólogo.

En el caso de una molécula de fusión del ECD del CD80, el compañero de fusión puede estar enlazado al extremo amino o al extremo carboxi del polipéptido. El polipéptido y el compañero de fusión pueden estar unidos de manera covalente. Si el compañero de fusión también es un polipéptido ("el polipéptido compañero de fusión"), el polipéptido y el polipéptido compañero de fusión pueden ser parte de una secuencia continua de aminoácidos. En esos casos, el polipéptido y el polipéptido compañero de fusión pueden traducirse como un único polipéptido a partir de una secuencia de codificación que codifique tanto el polipéptido como el polipéptido compañero de fusión. En algunos de esos casos, los dos polipéptidos están directamente enlazados en secuencia de forma tal que el extremo N de un polipéptido sigue inmediatamente al extremo C del otro sin aminoácidos intermedios. En otros casos, se inserta una secuencia peptídica enlazadora entre los dos polipéptidos, tal como una secuencia enlazadora GS. Un ECD del CD80 y el compañero de fusión pueden estar unidos de manera covalente a través de otros medios, tales como, por ejemplo, un enlace químico distinto de un enlace peptídico. El polipéptido y el compañero de fusión pueden estar unidos de manera no covalente. Pueden unirse, por ejemplo, mediante el uso de pares de unión. Los ejemplos de pares de unión incluyen, de modo no taxativo, biotina y avidina o estreptavidina, un anticuerpo y su antígeno, etc.

En algunas realizaciones, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende la secuencia de la SEQ ID NO:20 o 21.

Las moléculas de fusión del ECD del CD80 pueden, dependiendo de cómo se producen, tener diferentes niveles de modificaciones de glicosilación particulares. Por ejemplo, una molécula de fusión del ECD del CD80 puede tener diferentes concentraciones de residuos de ácido siálico en relación con la concentración de la proteína del ECD del CD80. Un mayor contenido de ácido siálico puede tener un tiempo de depuración más prolongado en el cuerpo y, por lo tanto, una biodisponibilidad general aumentada.

Con el fin de producir moléculas de fusión CD80 ECD con diversos niveles de sialilación, las moléculas de fusión CD80 ECD preparadas a partir de cultivo celular pueden fraccionarse mediante el uso, por ejemplo, de cromatografía de intercambio aniónico. En algunos casos, las moléculas de fusión CD80 ECD pueden someterse a uno o más procesos de purificación iniciales antes del fraccionamiento. Las fracciones agrupadas pueden analizarse de manera adicional mediante el uso de un ensayo de ácido siálico basado en una cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC, por sus siglas en inglés) con diclorhidrato de 4,5-metilendioxi-1,2-fenilendiamina (DMB) con el fin de determinar el contenido de ácido siálico.

En algunas realizaciones, el contenido de ácido siálico de la molécula de fusión del ECD del CD80 es de 10 a 60 mol de ácido siálico (SA) por mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido de ácido siálico de la molécula de fusión del ECD del CD80 es de 15 a 60 mol de SA por mol de proteína. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el contenido de SA es de 10-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 15-30 mol de SA/mol de proteína, tal como 15-25 mol de SA/mol de proteína, tal como 20-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 20-30 mol de SA/mol de proteína, tal como 30-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 10, 15, 20, 25, 30, 35 o 40 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido de SA es de al menos 15 mol de SA/mol de proteína, tal como al menos 20 mol de SA/mol de proteína, al menos 25 mol de SA/mol de proteína, al menos 30 mol de SA/mol de proteína, al menos 35 mol de SA/mol de proteína o al menos 40 mol de SA/mol de proteína. En algunas de esas realizaciones, el compañero de fusión es un dominio Fc, tal como un dominio Fc de IgG1, IgG2 o IgG4 humano.

En algunas realizaciones, el contenido de SA de la molécula de fusión del ECD del CD80 aumenta o se mantiene a un nivel relativamente alto en comparación con las moléculas de fusión del ECD del CD80 actuales. En algunas realizaciones, un aumento en el contenido de SA, tal como de 5, 10, 15, 20, 30, 40 o 50 mol de SA por mol de proteína del ECD del CD80, puede conducir a una eficacia mejorada en al menos un modelo de tumor singénico o de xenoinjerto de ratón. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el crecimiento tumoral en un modelo de tumor de ratón puede reducirse de manera

adicional en al menos un 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o 98 % cuando hay un aumento en el contenido de SA, tal como de 5, 10, 15, 20, 30, 40 o 50 mol de SA por mol de proteína del ECD del CD80.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, una molécula de fusión del ECD del CD80 Fc, tal como una molécula de fusión que comprende un dominio Fc de IgG1 humano, que comprende entre 10 y 60 mol de SA/mol de proteína es capaz de al menos un 80 %, tal como al menos un 90 %, tal como al menos un 95 %, tal como al menos un 98 % de inhibición del crecimiento de células tumorales en al menos un modelo de cáncer singénico o de xenoinjerto de ratón durante un período de al menos diez días o al menos dos semanas o al menos tres semanas, tal como de diez días a dos semanas o de dos a tres semanas luego de la inoculación con células tumorales. En algunas de esas realizaciones, la molécula comprende al menos 15 mol de SA/mol de proteína, tal como al menos 20 mol de SA/mol de proteína, o un intervalo de 15-30, 15-25 o 20-30 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el modelo de ratón es un modelo de tumor de ratón CT26, MC38 o B16. En algunas realizaciones, los ratones reciben de una a tres dosis de la molécula de 0.3 a 3.0 mg/kg, tal como de 0.3 a 0.6 mg/kg, por ejemplo, durante un período de una semana, una vez que los tumores han alcanzado un volumen mínimo. En algunas realizaciones, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14. En algunas realizaciones, la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende la secuencia de la SEQ ID NO:20 o 21.

La molécula de fusión del ECD del CD80 Fc puede reducir el crecimiento de células tumorales CT26 en ratones durante un período de al menos diez días o al menos dos semanas o al menos tres semanas, tal como de diez días a dos semanas o de dos a tres semanas, después de la inoculación en un grado mayor que una proteína de fusión del ECD del CD80 Fc con la secuencia de aminoácidos idéntica pero un nivel más bajo de SA por mol de proteína. La molécula de fusión del ECD del CD80 Fc puede reducir el crecimiento de tumores CT26 en ratones durante un período de al menos diez días o al menos dos semanas, tal como durante diez días a dos semanas o de dos a tres semanas, después de la inoculación en un grado mayor que un anticuerpo anti-CTLA4, tal como el clon 9D9 del anticuerpo anti-CTLA4. Se pueden administrar dosis de la molécula CD80 ECD Fc de una a tres veces a 0.3 mg/kg, 0.6 mg/kg o 3.0 mg/kg mientras que se administran dosis del anticuerpo anti-CTLA4 la misma cantidad de veces a 1.5 o 10 mg/kg. En este contexto, el modelo puede ser un modelo de tumor murino CT26, MC38 o B16.

#### Ejemplos de compañeros de fusión del dominio Fc

En el contexto de la presente invención, la molécula de fusión del ECD del CD80 tiene un dominio Fc como compañero de fusión, donde el dominio Fc deriva de IgG1 humana. El dominio Fc puede tener una secuencia de tipo salvaje, tal como una secuencia de IgG1 humana de tipo salvaje. El dominio Fc puede ser una variante natural o modificada. Se puede elegir un dominio Fc que tiene interacciones alteradas del Fc con uno o más receptores Fc gamma. Se puede elegir un dominio Fc que tiene interacciones alteradas del Fc con uno o más factores del complemento. Se puede elegir un dominio Fc que tiene interacciones alteradas del Fc con uno o más receptores Fc gamma y que tiene interacciones alteradas con uno o más factores del complemento.

El dominio Fc puede comprender al menos una mutación puntual tal como se describe en WO 2014/144960. El dominio Fc puede ser un dominio Fc humano con una sustitución en una o más de las posiciones E233, L234, L235, P238, D265, N297, A327, P329 o P331 (donde la numeración de estas posiciones es de acuerdo con el índice EU como en Kabat). El dominio Fc puede ser un dominio Fc humano con una mutación en L234, L235 y/o P331. El dominio Fc puede ser un dominio Fc humano con las sustituciones L234F, L235E y P331S. (Véase, p. ej., la SEQ ID NO: 12.) El dominio Fc puede tener una sustitución de aminoácidos en la posición N297. (Véase, p. ej., la SEQ ID NO:13.) El dominio Fc comprende una mutación C237S. (Véase, p. ej., la SEQ ID NO:9.)

Un compañero de fusión Fc mutado puede provocar que la molécula de fusión del ECD del CD80 Fc tenga interacciones alteradas con uno o más receptores Fc gamma en comparación con las de una molécula de fusión del ECD del CD80 con la misma secuencia de aminoácidos, con la excepción de las mutaciones del dominio Fc. El Fc puede tener una afinidad reducida con respecto a los receptores de Fc gamma tales como FcRN, RI, RIIA, RIIB y/o RIII en comparación con un dominio Fc de tipo salvaje. El Fc puede tener una afinidad reducida con respecto a todos los FcRN, RI, RIIA, RIIB y RIII en comparación con un dominio Fc de tipo salvaje.

Un compañero de fusión Fc mutado puede provocar que la molécula de fusión del ECD del CD80 Fc tenga interacciones alteradas con uno o más factores del complemento tales como C1, C2, C3, C4 y sus productos de escisión, tales como C4a, C4b, C2a, C2b, C3a y C3b. Además, un compañero de fusión Fc mutado puede provocar que la molécula de fusión del ECD del CD80 Fc tenga interacciones alteradas con uno o más factores del complemento en comparación con las de una molécula de fusión del ECD del CD80 con la misma secuencia de aminoácidos, con la excepción de las mutaciones del dominio Fc.

El ECD del CD80 y el compañero de fusión, tal como un compañero de fusión Fc, pueden estar directamente unidos de forma tal que el aminoácido del extremo N o C del Fc preceda o suceda inmediatamente al extremo N o C de la secuencia

del ECD del CD80. (Véanse, p. ej., las SEQ ID NOs:20 y 21.) El ECD del CD80 y el compañero de fusión pueden también estar unidos por una molécula enlazadora, tal como mediante una secuencia peptídica enlazadora, tal como mediante una secuencia enlazadora GS.

5 Los ECD del CD80 y las moléculas de fusión del ECD del CD80 también pueden incluir los CD80 y las moléculas de fusión del ECD del CD80 descritas, por ejemplo, en la sol de patente de los Estados Unidos n.º 15/340,238, presentada el 1.º de noviembre de 2016.

#### Subconjuntos de linfocitos T y linfocitos T de memoria central

10 Se pueden encontrar diferentes tipos o subconjuntos de linfocitos T en el cuerpo. En el timo se producen linfocitos T naturales (Tn) que tienen una especificidad con respecto al epítipo específico. Después de que los linfocitos T naturales encuentran el antígeno adecuado, proliferan y se diferencian en células efectoras, que pueden desplazarse a los sitios de inflamación. Después de una infección o vacunación, por ejemplo, la vasta mayoría de los linfocitos T efectores mueren por apoptosis, mientras que una pequeña fracción se convierte en diversos tipos de linfocitos T de memoria, que pueden permanecer en los tejidos corporales y pueden ayudar a proteger contra una nueva infección con el antígeno. Múltiples tipos o subconjuntos de linfocitos T de memoria pueden persistir en el cuerpo. Estos se han identificado en parte debido a sus diferentes combinaciones de marcadores de proteínas de la superficie. Como se indicó anteriormente, los "linfocitos T de memoria central" o "Tcm" son linfocitos T, lo cual incluye linfocitos T CD4+ o CD8+, que se identifican como CD95+ y CD28+, CD95+ y CD27+ o como CD95+, CD28+ y CD27+. Esas células abarcan al menos tres subtipos de linfocitos T de memoria adicionales. Primero, los Tcm, tal como se definen en la presente, abarcan un tipo de linfocito T de memoria que pueden aparecer en una etapa temprana en la diferenciación de los linfocitos T naturales (linfocitos Tn) y se denominan "linfocitos T de memoria central madre" (Tscm). Los Tscm sobreexpresan el CD95 y también son CD45RO-, CCR7+ y CD28+. En segundo lugar, el Tcm incluye células que son CD45RO+, CCR7+, CD95+ y CD28+, a las que se puede hacer referencia en otras partes como "Tcm" o un "componente de Tcm". En tercer lugar, los Tcm pueden incluir un subconjunto de linfocitos T de memoria denominados "linfocitos T de memoria de transición" (Ttm), que son CD45+, CCR7-, CD95+ y CD28+. Todos estos linfocitos Tscm, Tcm y Ttm son CD95+/CD28+ y, por lo tanto, se encuentran dentro del alcance de los Tcm tal como se usan en la presente. Además, en algunas realizaciones, los Tcm también puede expresar CD62L.

Los linfocitos Tscm pueden ser precursores de parte o la totalidad de los otros tipos de linfocitos T de memoria, incluidos otros Tcm, Ttm, así como linfocitos T de memoria efectores (Tem) y linfocitos de memoria efectores terminales (Tte). Los Tem son CD45RO+, CCR7-, CD28- y CD95+ y los Tte son CD45RO-, CCR7-, CD28- y CD95+. Además, los Tem no expresan CD62L.

30 Los Tcm pueden encontrarse en tejidos tales como los ganglios linfáticos, el bazo y la sangre, mientras que los Tem, por el contrario, pueden encontrarse inicialmente en tejidos periféricos no linfoides tales como los pulmones, el hígado y los intestinos, pero pueden migrar a otros tejidos tales como los ganglios linfáticos.

En algunas realizaciones, la cantidad o concentración de Tcm se determina, por ejemplo, antes o después de la administración del ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 al paciente.

#### 35 Composiciones y métodos terapéuticos

##### Métodos para aumentar los linfocitos T de memoria central y métodos para tratar el cáncer

40 Se debe entender que la invención y las realizaciones descritas de aquí en adelante a propósito de la terapia se refieren a sustancias o composiciones para su uso en métodos de terapia, en vez de a los métodos de terapia en sí. La presente descripción proporciona, por ejemplo, métodos para aumentar la cantidad de linfocitos T de memoria central (Tcm) en un paciente que lo necesite, que comprenden administrar un dominio extracelular (ECD) del CD80 humano o una molécula de fusión del ECD del CD80, donde el ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 se administran en una cantidad eficaz para aumentar la cantidad de Tcm en el paciente. En algunas realizaciones, la cantidad de Tcm en el paciente se determina mediante el análisis de la cantidad o concentración de Tcm en una muestra de sangre o plasma del paciente o en una muestra de tejido enfermo del paciente, tal como una muestra de tumor. En esas realizaciones, un aumento o una disminución en la cantidad de Tcm en el paciente se basa en si la cantidad o concentración de Tcm en la muestra analizada aumenta o disminuye en relación con la de una muestra extraída en un momento diferente, tal como antes de la administración. En algunas realizaciones, la cantidad de linfocitos T de memoria central en el paciente aumenta durante al menos una semana después de la administración, tal como durante al menos dos semanas o durante al menos un mes después de la administración.

50 La presente descripción también proporciona métodos para aumentar la cantidad de linfocitos Tcm en un paciente que lo necesite, que comprenden: administrar al paciente un dominio extracelular (ECD) del CD80 humano o una molécula de

fusión del ECD del CD80, y determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra del paciente después de la administración. En algunas realizaciones, la concentración de linfocitos T de memoria central también se determina en una muestra obtenida antes de la administración. En algunas realizaciones, las concentraciones de Tcm en las muestras previas y posteriores a la administración se comparan para determinar si la concentración de Tcm ha aumentado después de la administración. En algunas realizaciones, si la concentración de Tcm no ha aumentado, se administra más ECD del CD80 o molécula de fusión del ECD del CD80. En algunas realizaciones, la concentración de Tcm se mide en una muestra de sangre o plasma, mientras que en otras realizaciones se mide en una muestra de tejido enfermo, tal como una muestra de tumor. En algunas realizaciones, la concentración de linfocitos T de memoria central en muestras del paciente permanece aumentada en comparación con el nivel previo a la administración durante al menos una semana después de la administración, tal como durante al menos dos semanas o durante al menos un mes después de la administración.

La presente descripción proporciona, por ejemplo, métodos para tratar el cáncer en un paciente que lo necesite, que comprenden administrar un dominio extracelular (ECD) del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80, donde el ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 se administran en una cantidad eficaz para aumentar la cantidad de linfocitos T de memoria central (Tcm) en el paciente. En algunas realizaciones, la cantidad de Tcm en el paciente se determina mediante el análisis de la cantidad o concentración de Tcm en una muestra de sangre o plasma del paciente o en una muestra de tumor del paciente. En esas realizaciones, un aumento o una disminución en la cantidad de Tcm en el paciente se basa en si la cantidad o concentración de Tcm en la muestra analizada aumenta o disminuye en relación con la de una muestra extraída en un momento diferente, tal como antes de la administración. En algunas realizaciones, la cantidad de linfocitos T de memoria central en el paciente aumenta durante al menos una semana después de la administración, tal como durante al menos dos semanas o durante al menos un mes después de la administración.

La presente descripción también proporciona métodos para tratar el cáncer en un paciente que lo necesite, que comprenden: administrar al sujeto una molécula de fusión del ECD del CD80, y determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en la muestra después de la administración. En algunas realizaciones, la concentración de linfocitos T de memoria central también se determina en una muestra obtenida antes de la administración. La presente descripción también abarca métodos para detectar linfocitos T de memoria central en un sujeto, por ejemplo, en un sujeto con cáncer, donde los métodos comprenden, por ejemplo, determinar la concentración de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto antes y/o después de la administración de una molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto. En algunas realizaciones, las concentraciones de Tcm en las muestras previas y posteriores a la administración se comparan para determinar si la concentración de Tcm ha aumentado después de la administración. En algunas realizaciones, si la concentración de Tcm no ha aumentado, se administra más molécula de fusión del ECD del CD80. En algunas realizaciones, la concentración de Tcm se mide en una muestra de sangre o plasma, mientras que en otras realizaciones se mide en una muestra de tumor. En algunas realizaciones, la concentración de linfocitos T de memoria central en muestras del paciente permanece aumentada en comparación con el nivel previo a la administración durante al menos una semana después de la administración, tal como durante al menos dos semanas o durante al menos un mes después de la administración.

En algunas realizaciones, el cáncer puede ser benigno (al que también se hace referencia como "tumor benigno"), premaligno o maligno. En algunas realizaciones, el cáncer puede ser una forma de cáncer no hematológica o de "tumor sólido" o, alternativamente, el cáncer puede comprender células cancerosas hematológicas (p. ej., linfoma o leucemia). En algunas realizaciones, el ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 es eficaz para reducir el crecimiento del cáncer en un sujeto humano o animal, o en un modelo singénico o de xenoinjerto de ratón para el cáncer en tratamiento. En algunas realizaciones, el ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 es eficaz para reducir el volumen del tumor, tal como en un modelo singénico o de xenoinjerto de ratón para el cáncer en tratamiento. Los cambios en el volumen del tumor pueden medirse, por ejemplo, mediante la supervisión del tamaño (p. ej., diámetro) y opcionalmente la forma de un tumor primario en el animal. El crecimiento del tumor puede medirse, por ejemplo, como cambios en el volumen del tumor con el paso del tiempo.

Los ejemplos de cánceres particulares que pueden tratarse incluyen, de modo taxativo, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los ejemplos no taxativos más particulares de esos cánceres incluyen, de modo no taxativo, cáncer de células escamosas, cáncer pulmonar microcítico, cáncer hipofisario, cáncer de esófago, astrocitoma, sarcoma de tejidos blandos, cáncer pulmonar no microcítico (lo cual incluye el cáncer pulmonar no microcítico de células escamosas), adenocarcinoma pulmonar, carcinoma escamoso pulmonar, cáncer peritoneal, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello uterino, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer renal, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer cerebral, cáncer de endometrio, cáncer testicular, colangiocarcinoma, carcinoma de vesícula biliar, cáncer gástrico, melanoma y diversos tipos de cánceres de cabeza y cuello (incluido el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello).

En cualquiera de las realizaciones de métodos anteriores, el ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 que se administran al sujeto pueden inhibir el crecimiento del tumor en un modelo de cáncer de xenoinjerto singénico de ratón durante un período de 1 semana, 10 días, 2 semanas o 3 semanas, por ejemplo, en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 %. En algunas realizaciones, la molécula de fusión del ECD del CD80 puede inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de tumor de xenoinjerto de ratón CT26 en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 % a las dos semanas o a las tres semanas después de la inoculación. En algunos de esos casos, se pueden administrar dosis de la molécula de fusión de una a tres veces a entre 0.3 y 3 mg/kg, tal como a entre 0.3 y 0.6 mg/kg. En cualquiera de las realizaciones de métodos anteriores, la administración del ECD del CD80 o la molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto puede reducir el volumen de al menos un tumor en un sujeto humano o animal en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 %, por ejemplo, durante un período de un mes, dos meses, tres meses, seis meses o un año. En algunos casos, la molécula de fusión del ECD del CD80 Fc puede ser capaz de producir una regresión tumoral completa en un modelo de tumor de ratón, tal como un modelo CT26, por ejemplo, en una parte significativa de los ratones analizados, tal como al menos el 40 % o al menos el 50 % de los ratones.

En cualquiera de estos métodos, la molécula de fusión del ECD del CD80 pueden ser un ECD del CD80 Fc que comprenda 10-60 moles de SA por mol de proteína de ECD del CD80 Fc, tal como 15-60 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido es de 10-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 15-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 20-40 mol de SA/mol de proteína, 20-30 mol de SA/mol de proteína, 15-25 mol de SA/mol de proteína, 15-30 mol de SA por mol de proteína, o 30-40 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido de SA es de al menos 15, tal como al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35 o al menos 40 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido de SA es de 15, 20, 25, 30, 35 o 40 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG1, IgG2 o IgG4 humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14. En algunas realizaciones, la molécula de fusión comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 o 21. Esos ECD del CD80 o moléculas de fusión del ECD del CD80 se describen, por ejemplo, en la solicitud de patente de los Estados Unidos n.º 15/340,238, presentada el 1 de noviembre de 2016.

*Tratamientos de combinación con agentes estimuladores del sistema inmunitario que incluyen inhibidores de PD-1/PD-L1*

Se debe entender que la invención y las realizaciones descritas de aquí en adelante a propósito de terapia se refieren a sustancias o composiciones para su uso en métodos de terapia, en vez de a los métodos de terapia en sí. La molécula de fusión del ECD del CD80 se puede administrar en los métodos de la presente en combinación con una cantidad eficaz de al menos un agente estimulador del sistema inmunitario. Los agentes estimuladores del sistema inmunitario pueden incluir, por ejemplo, un fármaco de molécula pequeña o un producto biológico. Los ejemplos de agentes estimuladores del sistema inmunitario biológicos incluyen, de modo no taxativo, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, fragmentos de polipéptidos receptores o de ligandos, por ejemplo, que bloqueen la unión receptor-ligando, vacunas y citocinas.

El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un agonista de una molécula estimuladora del sistema inmunitario, incluida una molécula coestimuladora, mientras el al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un antagonista de una molécula inhibidora del sistema inmunitario, incluida una molécula coinhibidora. El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un agonista de una molécula inmunoestimuladora, incluida una molécula coestimuladora, que se encuentra en las células inmunitarias, tales como los linfocitos T. El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un antagonista de una molécula inhibidora del sistema inmunitario, incluida una molécula coinhibidora, que se encuentra en las células inmunitarias, tales como los linfocitos T. El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un agonista de una molécula estimuladora del sistema inmunitario, incluida una molécula coestimuladora, que se encuentra en células involucradas en la inmunidad innata, tales como los linfocitos NK. El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un antagonista de una molécula inhibidora del sistema inmunitario, incluida una molécula coinhibidora, que se encuentra en células involucradas en la inmunidad innata, tales como los linfocitos NK. La combinación puede mejorar la respuesta de linfocitos T específicos para el antígeno en el sujeto tratado y/o mejora la respuesta de inmunidad innata en el sujeto. La combinación puede producir una respuesta antitumoral mejorada en un modelo de cáncer animal, tal como un modelo singénico o de xenoinjerto, en comparación con la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 o el agente estimulador del sistema inmunitario de manera individual. La combinación puede producir una respuesta sinérgica en un modelo de cáncer animal, tal como un modelo singénico o de xenoinjerto, en comparación con la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 o el agente estimulador del sistema inmunitario de manera individual.

55

En cualquiera de los métodos de terapia de combinación anteriores,

5 la combinación de la molécula de fusión del ECD del CD80 con el agente estimulador del sistema inmunitario, tal como un inhibidor de PD-1/PD-L1, que se administra al sujeto puede inhibir el crecimiento del tumor en un modelo de cáncer singénico o de xenoinjerto de ratón durante un período de 1 semana, 10 días, 2 semanas o 3 semanas, por ejemplo, en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 98 %. En cualquiera de los métodos de terapia de combinación anteriores,

10 la combinación de la molécula de fusión del ECD del CD80 con el agente estimulador del sistema inmunitario, tal como un inhibidor de PD-1/PD-L1, que se administra al sujeto puede reducir el volumen de al menos un tumor en el sujeto o en un modelo animal en al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 % o al menos 95 %, por ejemplo, durante un período de un mes, dos meses, tres meses, seis meses o un año.

15 La molécula de fusión del ECD del CD80 puede ser un ECD del CD80 Fc que comprenda 10-60 moles de SA por mol de proteína ECD del CD80 Fc, tal como 15-60 moles de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido es 10-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 15-40 mol de SA/mol de proteína, tal como 20-40 mol de SA/mol de proteína, 20-30 mol de SA/mol de proteína, 15-25 mol de SA/mol de proteína, 15-30 mol de SA por mol de proteína, o 30-40 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido de SA es de al menos 15, tal como al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35 o al menos 40 mol de SA/mol de proteína. En algunas realizaciones, el contenido de SA es de 15, 20, 25, 30, 35 o 40 mol de SA/mol de proteína. En el contexto de la presente invención, el dominio Fc es un dominio Fc de IgG1 humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:14. En algunas realizaciones, la molécula de fusión comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20 o 21. En cualquiera de las realizaciones de tratamiento de combinación en la presente, la molécula de fusión del ECD del CD80 puede ser una molécula descrita en la solicitud de los Estados Unidos n.º 15,340,238, presentada el 1.º de noviembre de 2016, por ejemplo.

25 Un agente estimulador del sistema inmunitario puede dirigirse a una molécula estimuladora o inhibidora perteneciente a la superfamilia de inmunoglobulinas (IgSF). Por ejemplo, un agente estimulador del sistema inmunitario puede ser un agente que se dirija (o se una específicamente a) otro miembro de la familia B7 de polipéptidos. Un agente estimulador del sistema inmunitario puede ser un agente que se dirija a un miembro de la familia TNF de ligandos unidos a la membrana o un receptor coestimulador o coinhibidor que se una específicamente a un miembro de la familia de TNF. Los ejemplos de miembros de la familia de TNF y TNFR que pueden ser dianas de los agentes estimuladores del sistema inmunitario incluyen CD40 y CD40L, OX-40, OX-40L, GITR, GITRL, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTβR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, Linfotóxina α/TNFβ, TNFR2, TNFα, LTβR, Linfotóxina α 1β2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY y NGFR.

35 Un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender (i) un antagonista de una proteína que inhiba la activación de los linfocitos T (p. ej., inhibidor de puntos de control inmunitarios) tal como CTLA4 (p. ej., un anticuerpo anti-CTLA4, p. ej., YERVOY (ipilimumab) o tremelimumab), LAG-3 (p. ej., un anticuerpo anti-LAG-3, por ejemplo, BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218), o IMP-731 o IMP-321 (WO08/132601, WO09/44273), TIM3, Galectina 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectina-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, B7-H3 (p. ej., MGA271 (WO11/109400)), B7-H4, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, TIM-4 e ILT4 y/o pueden comprender (ii) un agonista de una proteína que estimule la activación de linfocitos T tal como B7-2, CD28, 4-1BB (CD137) (p. ej., un anticuerpo agonista de CD137 tal como urelumab o PF-05082566 (WO12/32433)), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40 (p. ej., un anticuerpo agonista de OX40, por ejemplo, MEDI-6383, MEDI-6469 o MOXR0916 (RG7888; WO06/029879)), OX40L, GITRL, CD70, CD27 (p. ej., un anticuerpo agonista de CD27 tal como varlilumab (CDX-1127)), CD40, CD40L, DR3 y CD28H. El agonista de una proteína que estimula la activación de los linfocitos T puede ser un anticuerpo.

50 Un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un agente que inhiba o sea un antagonista de una citocina que inhiba la activación de los linfocitos T (p. ej., IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF y otras citocinas inmunosupresoras) y un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un agente que sea un agonista de una citocina, tal como IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21 e IFNα (p. ej., la propia citocina) que estimule la activación de los linfocitos T. Los inhibidores del TGF-β incluyen, p. ej., GC1008, LY2157299, TEW7197 e IMC-TR1. Los agentes estimuladores del sistema inmunitario pueden comprender un antagonista de una quimiocina, tal como CXCR2 (p. ej., MK-7123), CXCR4 (p. ej., AMD3100), CCR2 o CCR4 (mogamulizumab).

55 El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un agonista del receptor tipo Toll, p. ej., un agonista de TLR2/4 (p. ej., Bacillus Calmette-Guerin); un agonista de TLR7 (p. ej., Hiltonol o Imiquimod); un agonista de TLR7/8 (p. ej., Resiquimod); o un agonista de TLR9 (p. ej., CpG7909).

Los agentes estimuladores del sistema inmunitario pueden incluir antagonistas de receptores inhibidores en linfocitos NK o agonistas de receptores activadores en linfocitos NK. El al menos un agente estimulador del sistema inmunitario puede ser un antagonista de KIR, p. ej., el anticuerpo lirilumab.

5 Un agente estimulador del sistema inmunitario puede comprender un anticuerpo agonista anti-GITR tal como TRX-518 (WO06/105021, WO09/009116), MK-4166 (WO11/028683) o el anticuerpo de GITR descrito en WO2015/031667.

Los agentes estimuladores del sistema inmunitario también pueden incluir agentes que mejoren la presentación de antígenos tumorales, p. ej., vacunas de células dendríticas, vacunas celulares secretoras de GM-CSF, oligonucleótidos CpG e imiquimod, o terapias que mejoren la inmunogenicidad de las células tumorales (p. ej., antraciclina).

10 Los agentes estimuladores del sistema inmunitario también pueden incluir determinadas vacunas tales como las vacunas dirigidas contra la mesotelina o vacunas atenuadas contra el cáncer de listeria, tales como CRS-207.

Los agentes estimuladores del sistema inmunitario también pueden comprender agentes que eliminen o bloqueen los linfocitos Treg, tales como agentes que se unan específicamente al CD25.

15 Los agentes estimuladores del sistema inmunitario también pueden comprender agentes que inhiban una enzima metabólica tal como la indoleamina dioxigenasa (IDO), dioxigenasa, arginasa u óxido nítrico sintetasa. Los antagonistas de IDO incluyen, por ejemplo, INCB-024360 (WO2006/122150, WO07/75598, WO08/36653, WO08/36642), indoximod, NLG-919 (WO09/73620, WO09/1156652, WO11/56652, WO12/142237) y F001287.

Los agentes estimuladores del sistema inmunitario también pueden comprender agentes que inhiban la formación de adenosina o inhiban el receptor de adenosina A2A.

20 Los agentes estimuladores del sistema inmunitario también pueden comprender agentes que inviertan/prevengan la anergia o el agotamiento de los linfocitos T y agentes que desencadenen una inflamación y/o activación inmunitaria innata en el sitio del tumor.

25 Las combinaciones de tratamientos también pueden combinarse de manera adicional en una estrategia de combinación que se dirija a múltiples elementos de la vía inmunitaria, tales como uno o más de los siguientes: al menos un agente que mejore la presentación de antígenos tumorales (p. ej., vacuna de células dendríticas, vacunas celulares de secreción de GM-CSF, oligonucleótidos CpG, imiquimod); al menos un agente que inhiba la regulación inmunitaria negativa, p. ej., mediante la inhibición de la vía de CTLA4 y/o la eliminación o el bloqueo de Treg u otras células supresoras del sistema inmunitario; una terapia que estimule la regulación inmunitaria positiva, p. ej., con agonistas que estimulen la vía de CD-137 y/o OX-40 y/o estimulen la función efectora de los linfocitos T; al menos un agente que aumente sistémicamente la frecuencia de los linfocitos T antitumorales; una terapia que elimine o inhiba los Tregs, tales como Tregs en el tumor, p. 30 ej., mediante el uso de un antagonista del CD25 (p. ej., daclizumab) o mediante la eliminación de microesferas anti-CD25 ex vivo; al menos un agente que afecte la función de las células mieloides supresoras en el tumor; una terapia que aumente la inmunogenicidad de las células tumorales (p. ej., antraciclina); la transferencia adoptiva de linfocitos T o linfocitos NK que incluye células genéticamente modificadas, p. ej., células modificadas por receptores de antígenos quiméricos (terapia CAR-T); al menos un agente que inhiba una enzima metabólica tal como la indoleamina dioxigenasa (IDO), dioxigenasa, 35 arginasa u óxido nítrico sintetasa; al menos un agente que invierta/prevenga la anergia o el agotamiento de los linfocitos T; una terapia que desencadene una activación inmunitaria innata y/o inflamación en el sitio del tumor; la administración de citocinas estimuladoras del sistema inmunitaria o el bloqueo de citocinas represoras del sistema inmunitario.

40 Por ejemplo, el o los agentes estimuladores del sistema inmunitario pueden comprender uno o más agentes agonistas que ligan receptores coestimuladores positivos; uno o más antagonistas (agentes de bloqueo) que atenúen la señalización a través de los receptores inhibidores, tales como antagonistas que superen distintas vías supresoras del sistema inmunitario dentro del microentorno tumoral; uno o más agentes que aumenten sistémicamente la frecuencia de las células inmunitarias antitumorales, tales como los linfocitos T, eliminen o inhiban los Tregs (p. ej., mediante la inhibición del CD25); uno o más agentes que inhiban enzimas metabólicas tales como IDO; uno o más agentes que inviertan/prevengan la anergia o el agotamiento de los linfocitos T; y uno o más agentes que desencadenen la activación inmunitaria innata y/o 45 la inflamación en los sitios tumorales.

En algunas realizaciones, la molécula de fusión del ECD del CD80 se administra en combinación con una cantidad eficaz de un inhibidor de PD-1/PD-L1.

*Inhibidores de PD-1/PD-L1*

Los inhibidores de PD-1/PD-L1 incluyen anticuerpos, proteínas de fusión y péptidos. Un ejemplo de proteína de fusión no taxativo que es un inhibidor de PD-1/PD-L1 es AMP-224 (Amplimmune, GlaxoSmithKline). Un ejemplo no taxativo de polipéptido que es un inhibidor de PD-1/PD-L1 es AUR-012. Otros ejemplos de inhibidores de PD-1/PD-L1 incluyen anticuerpos que inhiben la PD-1, tales como anticuerpos anti-PD-1 y anticuerpos anti-PD-L1. Esos anticuerpos pueden ser anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, anticuerpos de ratón y anticuerpos humanos.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1, tal como atezolizumab (Tecentriq®), durvalumab, avelumab o BMS-936559.

En algunas realizaciones, el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-1. En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. El nivolumab (también conocido como Opdivo®; anteriormente denominado 5C4, BMS-936558, MDX-1106 u ONO-4538) es un anticuerpo inhibidor de los puntos de control inmunitarios de PD-1 de IgG4 humana de longitud completa (S228P) que evita selectivamente la interacción con los ligandos de la PD-1 (PD-L1 y PD-L2), bloqueando así la regulación negativa de las funciones antitumorales de los linfocitos T (patente estadounidense n.º 8,008,449; Wang et al., 2014 Cancer Immunol Res. 2(9):846-56). En algunas realizaciones, el nivolumab se administra a una dosis de 3 mg/kg cada 2 semanas o a una dosis fija de 240 mg cada 2 semanas. En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. El pembrolizumab (también conocido como Keytruda®, anteriormente lambrolizumab y MK-3475) es un anticuerpo anti-PD-1 de IgG4 monoclonal humanizado. El pembrolizumab se describe, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 8,900,587; véase también [www \(punto\) cancer \(punto\) gov \(barra\) drugdictionary?cdrid=695789](http://www.fda.gov/oc/ohrt/pembrolizumab) (último acceso: 27 de marzo de 2017). El pembrolizumab ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento del melanoma recidivante o refractario. Por ejemplo, una dosis fija del anticuerpo anti-PD-1 pembrolizumab puede ser de 200 mg. En algunas realizaciones, el pembrolizumab puede administrarse a 200 mg cada 3 semanas. En otras realizaciones, el Ab anti-PD-1 es MEDI0608 (anteriormente AMP-514). El MEDI0608 se describe, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 8,609,089 B2 o en [www \(punto\) cancer \(punto\) gov \(barra\) drugdictionary? cdrid = 756047](http://www.fda.gov/oc/ohrt/pembrolizumab) (último acceso el 27 de marzo de 2017). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es Pidilizumab (CT-011), que es un anticuerpo monoclonal humanizado. El pidilizumab se describe en la patente estadounidense n.º 8,686,119 B2 o WO 2013/014668 A1.

## Terapias de combinación adicionales

Las moléculas de fusión del ECD del CD80 también pueden proporcionarse antes, sustancialmente al mismo tiempo o después de otros modos de tratamiento, por ejemplo, cirugía, quimioterapia, radioterapia o la administración de otro producto biológico.

Para el tratamiento del cáncer, por ejemplo, las moléculas de fusión del ECD del CD80 pueden administrarse junto con uno o más agentes contra el cáncer adicionales, tales como agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores del crecimiento, agentes antiangiogénesis y/o composiciones antineoplásicas. También se proporcionarán ejemplos no taxativos de agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores del crecimiento, agentes antiangiogénesis, agentes contra el cáncer y composiciones antineoplásicas que se pueden usar en combinación con los anticuerpos de la presente invención en las definiciones que siguen.

Un "**agente quimioterapéutico**" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen, de modo no taxativo, agentes alquilantes tales como tiotepa y la ciclofosfamida Cytosan®; alquilsulfonatos tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carbocouina, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas que incluyen altretamina, trietilenomelamina, trietilenofosforamida, trietilenotiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (en especial bulatacina y bulatacinona); una camptotecina (incluido el análogo sintético topotecano); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluidos sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptoficinas (en particular criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluidos los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiostatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enediina (p. ej., caliqueamicina, en especial caliqueamicina gamma 1I y caliqueamicina omegal1 (véase, p. ej., Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33:183-186 (1994))); dinemicina, incluida la dinemicina A; bisfosfonatos, tales como el clodronato; una esperamicina; así como cromóforo de neocarcinostatina y cromóforos antibióticos de cromoproteína enediina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carzinofilina, cronomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, la doxorubicina Adriamycin® (que incluye morfolino-doxorrubicina, cianomorfolino-doxorrubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorrubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido

micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purinas tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiruridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestano, mepitioestano, testolactona; antiadrenales tales como aminoglutehímida, mitotano, trilostano; regeneradores de ácido fólico tales como el ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diazicuona; elfornitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como la maitansina y ansamitocina; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; ácido podofilínico; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacáridos PSK® (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triazicuona; 2,2',2"-triclorotritilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, p. ej., el paclitaxel Taxol® (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ), la formulación de paclitaxel con nanopartículas modificadas con albúmina sin Cremofor Abraxane® (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) y el docetaxel Taxotere® (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucilo; la gemcitabina Gemzar®; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; la vinorelbina Navelbine®; novantrona; tenipósido; edatrexato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecano (Camptosar, CPT-11) (incluido el régimen de tratamiento de irinotecano con 5-FU y leucovorina); inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina; combretastatina; leucovorina (LV); oxaliplatino, incluido el régimen de tratamiento con oxaliplatino (FOLFOX); inhibidores de PKC-alfa, Raf, H-Ras, EGFR (p. ej., erlotinib (Tarceva®)) y VEGF-A que reducen la proliferación celular y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Ejemplos adicionales de agentes quimioterapéuticos ejemplares no limitativos incluyen agentes antihormonales que actúan para regular o inhibir la acción hormonal sobre cánceres tales como antiestrógenos y moduladores de receptores de estrógenos selectivos (SERM, por sus siglas en inglés), lo cual incluye, por ejemplo, tamoxifeno (incluido el tamoxifeno Nolvadex®), raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y el toremifeno Fareston®; inhibidores de la aromatasas que inhiben la enzima aromatasas, que regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglutehímida, el acetato de megestrol Megase®, Aromasin® exemestano, formestanie, fadrozol, el vorozol Rivisor®, el letrozol Femara® y el anastrozol Arimidex®; y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, leuprolida y goserelina; así como troxacitabina (un análogo de citosina de nucleósido de 1,3-dioxolano); oligonucleótidos antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en vías de señalización involucradas en la proliferación de células aberrantes, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf y H-Ras; ribozimas tales como un inhibidor de la expresión del VEGF (p. ej., la ribozima Angiozyme®) y un inhibidor de la expresión de HER2; vacunas tales como las vacunas de terapia génica, por ejemplo, la vacuna Allovectin®, la vacuna Leuvectin® y la vacuna Vaxid®; rIL-2 Proleukin®; Inhibidor de la topoisomerasa 1 Lurtotecan®; rmRH Abarelx®; y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores.

Un "agente antiangiogénesis" o "inhibidor de la angiogénesis" hace referencia a una sustancia de poco peso molecular, un polinucleótido (lo cual incluye, p. ej., un ARN inhibidor (ARNi o ARNip)), un polipéptido, una proteína aislada, una proteína recombinante, un anticuerpo, o conjugados o proteínas de fusión de estos, que inhibe la angiogénesis, la vasculogénesis o la permeabilidad vascular no deseada, ya sea de manera directa o indirecta. Se debería comprender que el agente antiangiogénico incluye los agentes que se unen al factor angiogénico o su receptor y bloquean su actividad angiogénica. Por ejemplo, un agente antiangiogénesis es un anticuerpo u otro antagonista de un agente angiogénico, p. ej., anticuerpos para el VEGF-A (p. ej., el bevacizumab (Avastin®)) o para el receptor del VEGF-A (p. ej., receptor KDR o receptor de Flt-1), inhibidores anti-PDGFR tales como Gleevec® (el mesilato Imatinib), moléculas pequeñas que bloquean la señalización del receptor del VEGF (p. ej., PTK787/ZK2284, SU6668, Sutent®/SU11248 (el malato sunitinib), AMG706, o aquellos que se describen en, p. ej., la solicitud de patente internacional WO 2004/113304). Los agentes antiangiogénesis también incluyen inhibidores de la angiogénesis naturales, p. ej., angiostatina, endostatina, etc. Véase, p. ej., Klagsbrun y D'Amore (1991) Annu.Rev. Physiol. 53:217-39; Streit y Detmar (2003) Oncogene 22:3172-3179 (p. ej., la Tabla 3 que enumera la terapia antiangiogénica en el melanoma maligno); Ferrara y Alitalo (1999) Nature Medicine 5(12):1359-1364; Tonini et al. (2003) Oncogene 22:6549-6556 (p. ej., la Tabla 2 que enumera factores antiangiogénicos conocidos); y Sato (2003) Int. J. Clin. Oncol. 8 200-206 (p. ej., la Tabla 1 que enumera los agentes antiangiogénicos usados en ensayos clínicos).

Un "agente inhibidor del crecimiento", tal como se usa en la presente, hace referencia a un compuesto o una composición que inhibe el crecimiento de una célula (tal como una célula que expresa el VEGF) in vitro o in vivo. Por lo tanto, el agente inhibidor del crecimiento puede ser uno que reduzca significativamente el porcentaje de células (tal como

una célula que exprese el VEGF) en la fase S. Los ejemplos de agentes inhibidores del crecimiento incluyen, de modo no taxativos, agentes que bloqueen la progresión del ciclo celular (en un lugar que no sea la fase S), tales como agentes que induzcan la detención de G1 y la detención de la fase M. Los bloqueadores de fase M clásicos incluyen las vincas (vincristina y vinblastina), los taxanos y los inhibidores de la topoisomerasa II, tales como doxorubicina, epirubicina, daunorrubicina, etopósido y bleomicina. Los agentes que detienen la G1 también llegan a detener la fase S, por ejemplo, agentes de alquilación de ADN tales como tamoxifeno, prednisona, dacarbazina, mecloretamina, cisplatino, metotrexato, 5-fluoruracilo y ara-C. Se puede encontrar información adicional en Mendelsohn e Israel, eds., *The Molecular Basis of Cancer*, Capítulo 1, titulado "Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs" de Murakami et al. (W. B. Saunders, Filadelfia, 1995), por ejemplo, p. 13. Los taxanos (paclitaxel y docetaxel) son fármacos anticancerígenos derivados del árbol de tejo. El docetaxel (Taxotere®, Rhone-Poulenc Rorer), derivado del tejo europeo, es un análogo semisintético del paclitaxel (Taxol®, Bristol-Myers Squibb). El paclitaxel y docetaxel promueven el ensamblaje de microtúbulos a partir de dímeros de tubulina y estabilizan microtúbulos al evitar la despolimerización, lo cual genera la inhibición de la mitosis en las células.

La expresión "**composición antineoplásica**" hace referencia a una composición útil en el tratamiento del cáncer que comprende al menos un agente terapéutico activo. Los ejemplos de agentes terapéuticos incluyen, de modo no taxativo, p. ej., agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores del crecimiento, agentes citotóxicos, agentes usados en la radioterapia, agentes antiangiogénesis, otros agentes inmunoterapéuticos contra el cáncer además de los inhibidores de PD-1/PD-L1, agentes apoptóticos, agentes antitubulina y otros agentes para tratar el cáncer, tales como anticuerpos anti-HER-2, anticuerpos anti-CD20, un antagonista del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (p. ej., un inhibidor de tirosina cinasas), inhibidor de HER1/EGFR (p. ej., erlotinib (Tarceva®), inhibidores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (p. ej., Gleevec® (el mesilato Imatinib)), un inhibidor de COX-2 (p. ej., celecoxib), interferones, inhibidores de CTLA-4 (p. ej., el anticuerpo anti-CTLA ipilimumab (YERVOY®)), inhibidores del PD-L2 (p. ej., anticuerpos anti-PD-L2), inhibidores de TIM3 (p. ej., anticuerpos anti-TIM3), citocinas, antagonistas (p. ej., anticuerpos neutralizantes) que se unan a una o más de las siguientes dianas ErbB2, ErbB3, ErbB4, PDGFR-beta, BlyS, APRIL, BCMA, PD-L2, CTLA-4, TIM3 o receptor/es del VEGF, TRAIL/Apo2, y otros agentes químicos bioactivos y orgánicos, etc. Las combinaciones de estos también están incluidas en la invención.

#### Vías de administración y portadores

Los polipéptidos y las moléculas de fusión pueden administrarse in vivo por diversas vías, que incluyen, de modo no taxativo, oral, intrarterial, parenteral, intranasal, intravenosa, intramuscular, intracardiaca, intraventricular, intratraqueal, bucal, rectal, intraperitoneal, intradérmica, tópica, transdérmica e intratecal, o de otro modo mediante implantación o inhalación. Las composiciones de la presente pueden formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas; lo cual incluye, de modo no taxativo, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, ungüentos, soluciones, supositorios, enemas, inyecciones, inhalantes y aerosoles. Una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido puede recubrirse sobre micropartículas de oro y suministrarse por vía intradérmica mediante un dispositivo de bombardeo de partículas, o "pistola génica", como se describe en la bibliografía (véase, por ejemplo, Tang et al., *Nature* 356:152-154 (1992)). La formulación y vía de administración adecuadas pueden seleccionarse de acuerdo con la aplicación prevista.

Se pueden proporcionar composiciones que comprenden polipéptidos en formulaciones con una amplia variedad de portadores farmacéuticamente aceptables (véase, p. ej., Gennaro, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus*, 20.<sup>a</sup> ed. (2003); Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7.<sup>a</sup> ed., Lippencott Williams y Wilkins (2004); Kibbe et al., *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 3.<sup>a</sup> ed., Pharmaceutical Press (2000)). Se encuentran disponibles diversos portadores farmacéuticamente aceptables, que incluyen vehículos, adyuvantes y diluyentes. Además, también están disponibles diversas sustancias auxiliares farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de ajuste y amortiguación del pH, agentes de ajuste de la tonicidad, estabilizadores, agentes humectantes y similares. Los ejemplos no taxativos de portadores incluyen solución salina, solución salina amortiguada, dextrosa, agua, glicerol, etanol, y combinaciones de estos.

Además, las composiciones que comprenden polipéptidos y moléculas de fusión pueden formularse para la inyección, incluida la administración subcutánea, mediante la disolución, suspensión o emulsión en un solvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales o de otro tipo, glicéridos de ácido alifático sintético, ésteres de ácidos alifáticos más altos o propilenglicol; y, si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizadores, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizadores y conservantes. En diversas realizaciones, las composiciones pueden formularse para la inhalación, por ejemplo, mediante el uso de propulsores aceptables presurizados tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno, y similares. Las composiciones también pueden formularse, en diversas realizaciones, en microcápsulas de liberación sostenida, tal como con polímeros biodegradables o no biodegradables. Un ejemplo de formulación biodegradable no taxativo incluye polímero de ácido poliláctico-ácido glicólico. Un ejemplo de formulación no biodegradable no taxativo incluye un éster de ácido graso de poliglicerina. Determinados métodos para elaborar esas formulaciones se describen, por ejemplo, en EP 1 125 584 A1.

También se describen paquetes y kits farmacéuticos que comprenden uno o más recipientes, cada uno de los cuales contiene una o más dosis de un polipéptido o una combinación de polipéptidos. Se proporciona una dosis unitaria donde la dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada de una composición que comprende un polipéptido o una combinación de polipéptidos, con o sin uno o más agentes adicionales. En algunas realizaciones, se suministra una dosis unitaria de ese tipo en una jeringa precargada de un solo uso para la inyección. La composición contenida en la dosis unitaria puede comprender solución salina, sacarosa, o similares; una solución amortiguadora, tal como fosfato, o similares; y/o formularse dentro de un intervalo de pH estable y eficaz. Alternativamente, la composición puede proporcionarse como un polvo liofilizado que puede reconstituirse tras la adición de un líquido adecuado, por ejemplo, agua estéril. La composición puede comprender una o más sustancias que inhiben la agregación de proteínas, incluidas, de modo no taxativo, la sacarosa y arginina. Una composición de la invención puede comprender heparina y/o un proteoglicano.

Las composiciones farmacéuticas se administran en una cantidad eficaz para el tratamiento o la profilaxis de la indicación específica. La cantidad con eficacia terapéutica depende normalmente del peso del sujeto en tratamiento, su afección física o de salud, la extensión de la afección que se haya de tratar, o la edad del sujeto que se haya de tratar. ECD del CD80 y moléculas de fusión del ECD en combinación con o como componentes de vacunas contra el cáncer.

La presente descripción también incluye métodos para administrar un ECD del CD80 o una molécula de fusión del ECD del CD80 en combinación con una composición de vacuna contra el cáncer que comprende al menos un antígeno con especificidad tumoral o asociado al tumor. La descripción también proporciona composiciones de vacunas contra el cáncer que comprenden una molécula de fusión del ECD del CD80 y al menos un antígeno con especificidad tumoral o asociado al tumor. En cualquier situación (ya sea que la molécula de fusión del ECD del CD80 se administre por separado o sea un componente de una vacuna contra el cáncer), la vacuna contra el cáncer puede ser una vacuna contra el cáncer personalizada.

El antígeno con especificidad tumoral o asociado al tumor puede ser un antígeno encontrado comúnmente, asociado al tumor. El antígeno con especificidad tumoral o asociado al tumor puede ser un antígeno encontrado en el tumor del paciente particular y que, por ejemplo, haya sido producido o amplificado *ex vivo* y luego reintroducido como una vacuna. El antígeno puede proporcionarse en la superficie de las células inmunitarias tales como células presentadoras de antígenos, que luego se administren al paciente.

La presente descripción también proporciona una proteína de fusión del ECD del CD80 como componente de una composición de vacuna contra el cáncer. Por ejemplo, una composición de vacuna contra el cáncer puede comprender un antígeno con especificidad tumoral o asociado al tumor en combinación con una proteína de fusión del ECD del CD80.

En esas composiciones y métodos de vacuna, la proteína de fusión del ECD del CD80 puede ser capaz de alterar los subconjuntos de linfocitos T de memoria en el paciente que recibe la administración de la vacuna.

## EJEMPLOS

Se pretende que los ejemplos que se indicarán a continuación sean puramente ilustrativos de la invención y no debería considerarse que limiten la invención de ningún modo. No se pretende que los ejemplos impliquen que los siguientes experimentos sean todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos por asegurar la exactitud de los números usados (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero se debe tener en cuenta un margen de error y desvío experimental. A menos que se indique lo contrario, las partes son partes por peso, el peso molecular es el peso molecular promediado en peso, la temperatura se proporciona en grados centígrados y la presión es atmosférica o similar.

### **Ejemplo 1: Efecto de la administración de ECD del CD80-Fc sobre los linfocitos T de memoria central CD4+ y CD8+ en macacos cangrejeros**

Se realizó un estudio en un macaco cangrejero (*Macaca fascicularis*) sin tratamiento previo mediante el uso del ECD del CD80-Fc humano, que consiste en el dominio extracelular (ECD) del CD80 humano enlazado al dominio Fc de la IgG1 humana de tipo salvaje. El ECD del CD80-Fc humano se analizó a 1 mg/kg, 10 mg/kg y 50 mg/kg administrados semanalmente durante 4 semanas.

Dieciséis monos recibieron la administración de vehículo o CD80-ECD-Fc humano los días 1, 8, 15 y 22. Cada grupo experimental estaba compuesto por 4 animales, 2 hembras y 2 machos. Un animal de cada sexo de cada grupo de dosis fue sacrificado el día 26. Los animales restantes fueron retenidos y observados durante un período de recuperación posterior a la dosificación de seis semanas.

Se recogieron muestras de sangre venosa entera en los siguientes momentos: dos muestras previas a la dosis con al menos una semana de separación, 24 horas después de la primera dosis el día 2, el día 4, antes de la dosis el día 8, antes de la dosis el día 15 y los días de la necropsia programada, día 26 y día 64.

5 El análisis de citometría de flujo se realizó en muestras de sangre entera para evaluar la frecuencia, activación y proliferación de linfocitos T (linfocitos T CD8+ y linfocitos T CD4+), linfocitos T reguladores (Treg), linfocitos NK y un repertorio de subconjuntos de memoria de linfocitos T (sin exposición previa, de memoria central y de memoria efectora).

10 El tratamiento con el ECD del CD80-Fc humano no indujo cambios evidentes en las frecuencias de los linfocitos principales (linfocitos NK, linfocitos B, total de linfocitos T CD4+ o linfocitos CD8+, o Treg) en la sangre periférica de los macacos cangrejeros. El ECD del CD80-Fc humano indujo la expansión dependiente de la dosis y la proliferación de subconjuntos de linfocitos T de memoria central (Tcm). Se observó la expansión de los linfocitos T CD4+ y CD8+ de memoria central que expresaban CD95 y CD28 en los grupos que recibieron dosis de 10 y 50 mg/kg pero no en el grupo que recibió la dosis de 1 mg/kg. Las poblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ de memoria central continuaron expandiéndose en frecuencia después de cada dosis de CD80 ECD-Fc humano y luego se redujeron para el final del estudio (**Figura 1 y 2**).  
 15 La proliferación de linfocitos T CD4+ y CD8+ de memoria central medida mediante la expresión de Ki67 también aumentó en los grupos tratados con 10 mg/kg y 50 mg/kg. La expresión de Ki67 fue máxima en los Tcm CD4+ a los 7 días después de la primera dosis y en los Tcm CD8+ a los 7 días después de la segunda dosis; la expresión de Ki67 volvió a los niveles de referencia al final del estudio (**Figura 3 y 4**).

TABLA DE SECUENCIAS

La siguiente tabla proporciona una lista de determinadas secuencias a las que se hace referencia en la presente.

SEQ. ID. NO.	Descripción	Secuencia
1	Secuencia de aminoácidos precursora de CD80 humano (con secuencia señal)	MGHTRRQGTSPSKCPYLNFFQLLVLAGLSHFCSG VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSVEELAQTRIYWQ KEKKMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDITNLS IVILALRPSDEGTYECVVLKYEKDAFKREHLAEV TLSVKADFPTPSISDFEIPSTNIRRIICSTSGGFPEPH LSWLENGEELNAINTTVSQDPETELYAVSSKLD NMTTNHSFMCLIKYGHLRVNQT FNWNNTTKQEH FPDNLPSWAITLISVNGIFVICCLTYCFAPRCRER RRNERLRRESVRPV
2	Secuencia de aminoácidos precursora de CD80 de ratón (con secuencia señal)	MACNCQLMQDTPLLKFPCLLILFVLLIRLSQ VSSDVDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESE DRIYWQKHKDKVVLVSVIAGKLVWPEYKNRT LYDNNTYSLIHLGLVLSDRGTYSVQKQKRG TYEVKHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSAD TKRITCFASGGFPKPRFSWLENGRELPGINTTI SQDPESELYTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGD AHVSEDFTWEKPPEDPPDSKN'TLVLFAGAGFG AVITVVVIVVIKCFCKHRSCFRNEASRETNN SLTFGPEEALAEQTVFL
3	Isoforma de CD80 humano 2 (sin secuencia señal)	VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSVEELAQTRIY WQKEKKMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDI TNNLSIVILALRPSDEGTYECVVLKYEKDAFK REHLAEVTLSVKADFPTPSISDFEIPSTNIRRIIC STSGGFPEPHLSWLENGEELNAINTTVSQDPE TELYAVSSKLDNMTTNHSFMCLIKYGHLRV NQT FNWNNTSFAPRCRERRRNERLRRESVRPV

ES 2 899 616 T3

SEQ. ID. NO.	Descripción	Secuencia
4	Isoforma de CD80 humano 3 (sin secuencia señal)	VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSV EELAQTRIY WQKEKKMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDI TNNLSIVILALRPSDEGTYECVVLKYEKDAFK REHLAEVTL SVKGFAPRCRERRRNERLRRESV RPV
5	Secuencia de ECD de CD80 humano (sin secuencia señal)	VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSV EELAQTRIYWQ KEKKMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDITNNLS IVILALRPSDEGTYECVVLKYEKDAFKREHLAEV TL SVKADFPTPSISDFEIPSTNIRRIICSTSGGFPEPH LSWLENGEELNAINTTVSQDPETELYAVSSKLD NMTTNHSFMCLIKYGH LRVNQTFNWNNTTKQEH FPDN
6	Secuencia de ECD de CD80 de ratón (sin secuencia señal)	VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIY WQKHDKVVL SVIAGKLKVWPEYKNRTLYDN TTYSLIILGLVLSDRGTYS CVVQKKERGTYEV KHLALVKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRIT CFASGGFPKPRFSWLENGRELPGINTTISQDP ESELYTISSQLDFNTTRNHTIKCLIKYGDAHV SEDFTWEKPPEDPPDSKN
7	Secuencia señal de CD80 humano	MGHTRRQGTSPSKCPYL NFFQLLVLAGLSHFCSG
8	Secuencia señal de CD80 de ratón	MACNCQLMQDTPLLKFP CRLILLFVLLIRLSQVS SD
9	Fc C237S	EPKSSDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSRD ELTKNQVSLT CLVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTPP VLDSGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	Fc	ERKCCVECPCP APPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP APIEKTISK KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK

SEQ. ID. NO.	Descripción	Secuencia
11	Fc	ESKYGPPCPS CPAPEFLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSQ EDPEVQFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQFNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKGL PSSIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSQEEM TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS RLTVDKSRWQ EGNVFSCSV MHEALHNHYTQ KSLSLSLGK
12	Mutante L234F, L235E, P331S de Fc de IgG1 humano	EPKSSDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPASIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
13	Mutante N297 de Fc de IgG1 humano	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
14	Fc IgG1 humano	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	Fc IgG3 humano	ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPCPRCPEPK SCDTPPCPRCPEPKSCDTPPCPRCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKT KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQK SLSLSPGK
16	Fc IgG4 humano	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

SEQ. ID. NO.	Descripción	Secuencia
17	ECD de CD80 de ratón Fc IgG2a de ratón (parte de Fc subrayada)	<p>VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYW            QKHDKVVLVSVIAGKLVWPEYKNRTLYDNNTY            SLIILGLVLSDRGTYSCVVQKKERGTYEVKHLAL            VKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFP            KPRFSWLENGRELPGINTTISQDPESELYTISSQLD            FNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPP            DSKNEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFIFPPK  <u>IKDVLMI<del>S</del>LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFN</u>  <u>NVEVHTAQQT<del>H</del>REDYNSTLRVVSALPIQHODW</u>  <u>MSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPO</u>  <u>VYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVE</u>  <u>WTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRV</u>  <u>EKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTP</u>  <u>GK</u></p>
18	ECD de CD80 de ratón Fc IgG1 humano WT (parte de Fc subrayada)	<p>VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYW            QKHDKVVLVSVIAGKLVWPEYKNRTLYDNNTY            SLIILGLVLSDRGTYSCVVQKKERGTYEVKHLAL            VKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFP            KPRFSWLENGRELPGINTTISQDPESELYTISSQLD            FNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPP            DSKNEPKSSDKTHTCPPCAPELLGGPSVFLFPPK  <u>PKDTLMISR<del>T</del>PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u>  <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ</u>  <u>DWLN<del>G</del>KEYKCKVSNKALPAPIEK<del>T</del>ISKAKGQPR</u>  <u>EPOVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u>  <u>VEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV</u>  <u>DKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP</u>  <u>GK</u></p>
19	ECD de CD80 de ratón Fc IgG1 humano MT (234, 235, 331) (parte de Fc subrayada; mutantes en negrita)	<p>VDEQLSKSVKDKVLLPCRYNSPHEDESEDRIYW            QKHDKVVLVSVIAGKLVWPEYKNRTLYDNNTY            SLIILGLVLSDRGTYSCVVQKKERGTYEVKHLAL            VKLSIKADFSTPNITESGNPSADTKRITCFASGGFP            KPRFSWLENGRELPGINTTISQDPESELYTISSQLD            FNTTRNHTIKCLIKYGDAHVSEDFTWEKPPEDPP            DSKNEPKSSDKTHTCPPCAPEFEGGPSVFLFPPK  <u>PKDTLMISR<del>T</del>PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u>  <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ</u>  <u>DWLN<del>G</del>KEYKCKVSNKALPASIEK<del>T</del>ISKAKGQPR</u>  <u>EPOVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u>  <u>VEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV</u>  <u>DKSRWQOGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP</u>  <u>GK</u></p>

SEQ. ID. NO.	Descripción	Secuencia
20	ECD de CD80 humano Fc IgG1 humano WT (parte de Fc subrayada)	<p>VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSVEELAQTRIWQ            KEKMMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDITNNLS            IVILALRPSDEGTYECVVLKYEKDAFKREHLAEV            TLSVKADFPTPSISDFEIPSTNIRRIICSTSGGFPEPH            LSWLENGEELNAINTTVSQDPETELYAVSSKLDL            NMTTNHSFMCLIKYGHLRVNQTFNWNTTKQEH  <u>FPDNEPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK</u>  <u>PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u>  <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ</u>  <u>DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR</u>  <u>EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u>  <u>VEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV</u>  <u>DKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSP</u>  <u>GK</u></p>
21	ECD de CD80 humano Fc IgG1 L234F, L235E, P331S MT humano (parte de Fc subrayada; mutantes en negrita)	<p>VIHVTKEVKEVATLSCGHNVSVEELAQTRIWQ            KEKMMVLTMMSGDMNIWPEYKNRTIFDITNNLS            IVILALRPSDEGTYECVVLKYEKDAFKREHLAEV            TLSVKADFPTPSISDFEIPSTNIRRIICSTSGGFPEPH            LSWLENGEELNAINTTVSQDPETELYAVSSKLDL            NMTTNHSFMCLIKYGHLRVNQTFNWNTTKQEH  <u>FPDNEPKSSDKTHTCPPCPAPE<b>F</b>EGGPSVFLFPPK</u>  <u>PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u>  <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ</u>  <u>DWLNGKEYKCKVSNKALP<b>S</b>IEKTISKAKGQPR</u>  <u>EPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u>  <u>VEWESNGOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV</u>  <u>DKSRWQOGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSP</u>  <u>GK</u></p>
22	Precursor de PD-1 humano (con secuencia señal) UniProtKB/Swiss-Prot: Q15116.3, 01-OCT-2014	<p>MQIPQAPWPV VWAVLQLGWR            PGWFLDSPDR PWNPPTFSPA LLVVTEGDNA            TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA            AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV            VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA            ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV            VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI            GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW            REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS            SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL</p>
23	PD-1 humana (madura, sin secuencia señal)	<p>PGWFLDSPDR PWNPPTFSPA LLVVTEGDNA            TFTCSFSNTS ESFVLNWYRM SPSNQTDKLA            AFPEDRSQPG QDCRFRVTQL PNGRDFHMSV            VRARRNDSGT YLCGAISLAP KAQIKESLRA            ELRVTERRAE VPTAHPSPSP RPAGQFQTLV            VGVVGGLLGS LVLLVWVLAV ICSRAARGTI            GARRTGQPLK EDPSAVPVFS VDYGELDFQW            REKTPEPPVP CVPEQTEYAT IVFPSGMGTS            SPARRGSADG PRSAQPLRPE DGHCSWPL</p>

SEQ. ID. NO.	Descripción	Secuencia
24	Precursor de PD-L1 humano (con secuencia señal) UniProtKB/Swiss-Prot:Q9NZQ7.1, 01-OCT-2014	MRIFAVFIFM TYWHLLNAFT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAELVIPERP LAHPPNERH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET
25	PD-L1 humano (maduro, sin secuencia señal)	FT VTVPKDLYVV EYGSNMTIEC KFPVEKQLDL AALIVYWEME DKNIIQFVHG EEDLKVQHSS YRQRARLLKD QLSLGNAALQ ITDVKLQDAG VYRCMISYGG ADYKRITVKV NAPYNKINQR ILVVDPTSE HELTCQAEGY PKAEVIWTSS DHQVLSGKTT TTNSKREEKL FNVSTLRIN TTTNEIFYCT FRRLDPEENH TAELVIPERP LAHPPNERH LVILGAILLC LGVALTFIFR LRKGRMMDVK KCGIQDTNSK KQSDTHLEET

**LISTADO DE SECUENCIAS**

[0162]

- 5 <110> FIVE PRIME THERAPEUTICS, INC.  
BRENNAN, THOMAS  
SENNINO, BARBARA  
BARBEE, SUSANNAH D.  
JEFFRY, URSULA
- <120> MÉTODOS DE TRATAMIENTO CON POLIPÉPTIDOS DEL DOMINIO EXTRACELULAR DEL CD80
- 10 <130> 3986.007PC01
- <150> 62/491.479  
<151> 18-04-2017
- <160> 25
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1  
<211> 288  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial
- 20 <220>  
<223> Secuencia de aminoácidos precursora de CD80 humano (con secuencia señal)
- <400> 1



ES 2 899 616 T3

Pro Ser Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile  
 145 150 155 160

Ile Cys Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu  
 165 170 175

Glu Asn Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp  
 180 185 190

Pro Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met  
 195 200 205

Thr Thr Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg  
 210 215 220

Val Asn Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro  
 225 230 235 240

Asp Asn Leu Leu Pro Ser Trp Ala Ile Thr Leu Ile Ser Val Asn Gly  
 245 250 255

Ile Phe Val Ile Cys Cys Leu Thr Tyr Cys Phe Ala Pro Arg Cys Arg  
 260 265 270

Glu Arg Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val  
 275 280 285

<210> 2

<211> 306

5 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de aminoácidos precursora de CD80 de ratón (con secuencia señal)

<400> 2

10

Met Ala Cys Asn Cys Gln Leu Met Gln Asp Thr Pro Leu Leu Lys Phe  
 1 5 10 15

Pro Cys Pro Arg Leu Ile Leu Leu Phe Val Leu Leu Ile Arg Leu Ser  
 20 25 30

Gln Val Ser Ser Asp Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys Ser Val Lys Asp  
 35 40 45

Lys Val Leu Leu Pro Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His Glu Asp Glu Ser  
 50 55 60

ES 2 899 616 T3

Glu Asp Arg Ile Tyr Trp Gln Lys His Asp Lys Val Val Leu Ser Val  
 65 70 75 80  
 Ile Ala Gly Lys Leu Lys Val Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Leu  
 85 90 95  
 Tyr Asp Asn Thr Thr Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly Leu Val Leu Ser  
 100 105 110  
 Asp Arg Gly Thr Tyr Ser Cys Val Val Gln Lys Lys Glu Arg Gly Thr  
 115 120 125  
 Tyr Glu Val Lys His Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser Ile Lys Ala Asp  
 130 135 140  
 Phe Ser Thr Pro Asn Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro Ser Ala Asp Thr  
 145 150 155 160  
 Lys Arg Ile Thr Cys Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro Lys Pro Arg Phe  
 165 170 175  
 Ser Trp Leu Glu Asn Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile Asn Thr Thr Ile  
 180 185 190  
 Ser Gln Asp Pro Glu Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser Ser Gln Leu Asp  
 195 200 205  
 Phe Asn Thr Thr Arg Asn His Thr Ile Lys Cys Leu Ile Lys Tyr Gly  
 210 215 220  
 Asp Ala His Val Ser Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys Pro Pro Glu Asp  
 225 230 235 240  
 Pro Pro Asp Ser Lys Asn Thr Leu Val Leu Phe Gly Ala Gly Phe Gly  
 245 250 255  
 Ala Val Ile Thr Val Val Val Ile Val Val Ile Ile Lys Cys Phe Cys  
 260 265 270  
 Lys His Arg Ser Cys Phe Arg Arg Asn Glu Ala Ser Arg Glu Thr Asn  
 275 280 285  
 Asn Ser Leu Thr Phe Gly Pro Glu Glu Ala Leu Ala Glu Gln Thr Val  
 290 295 300  
 Phe Leu  
 305

<210> 3  
 <211> 222  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 899 616 T3

<220>

<223> Isoforma de CD80 humano 2 (sin secuencia señal)

<400> 3

```

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1           5           10           15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20           25           30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35           40           45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50           55           60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65           70           75           80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85           90           95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser
100          105          110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys
115          120          125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn
130          135          140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu
145          150          155          160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr
165          170          175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn
180          185          190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Ser Phe Ala Pro Arg Cys Arg Glu Arg
195          200          205

Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
210          215          220

```

5

<210> 4

<211> 128

10 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

ES 2 899 616 T3

<220>

<223> Isoforma de CD80 humano 3 (sin secuencia señal)

<400> 4

```

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1           5           10           15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20           25           30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn
35           40           45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn
50           55           60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr
65           70           75           80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His
85           90           95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Gly Phe Ala Pro Arg Cys Arg
100          105          110

Glu Arg Arg Arg Asn Glu Arg Leu Arg Arg Glu Ser Val Arg Pro Val
115          120          125
    
```

5

<210> 5

<211> 208

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Secuencia de ECD de CD80 humano (sin secuencia señal)

<400> 5

```

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys
1           5           10           15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp
20           25           30
    
```

ES 2 899 616 T3

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn  
 35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn  
 50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His  
 85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser  
 100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys  
 115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn  
 130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu  
 145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr  
 165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn  
 180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn  
 195 200 205

<210> 6

<211> 209

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de ECD de CD80 de ratón (sin secuencia señal)

<400> 6

Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys Ser Val Lys Asp Lys Val Leu Leu Pro  
 1 5 10 15

Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His Glu Asp Glu Ser Glu Asp Arg Ile Tyr  
 20 25 30

5

10

ES 2 899 616 T3

Trp Gln Lys His Asp Lys Val Val Leu Ser Val Ile Ala Gly Lys Leu  
 35 40 45

Lys Val Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Leu Tyr Asp Asn Thr Thr  
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly Leu Val Leu Ser Asp Arg Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Ser Cys Val Val Gln Lys Lys Glu Arg Gly Thr Tyr Glu Val Lys His  
 85 90 95

Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser Ile Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Asn  
 100 105 110

Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro Ser Ala Asp Thr Lys Arg Ile Thr Cys  
 115 120 125

Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro Lys Pro Arg Phe Ser Trp Leu Glu Asn  
 130 135 140

Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile Asn Thr Thr Ile Ser Gln Asp Pro Glu  
 145 150 155 160

Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser Ser Gln Leu Asp Phe Asn Thr Thr Arg  
 165 170 175

Asn His Thr Ile Lys Cys Leu Ile Lys Tyr Gly Asp Ala His Val Ser  
 180 185 190

Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys Pro Pro Glu Asp Pro Pro Asp Ser Lys  
 195 200 205

Asn

- <210> 7
- <211> 34
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Secuencia señal de CD80 humano
- <400> 7

5

10

Met Gly His Thr Arg Arg Gln Gly Thr Ser Pro Ser Lys Cys Pro Tyr  
 1 5 10 15  
 Leu Asn Phe Phe Gln Leu Leu Val Leu Ala Gly Leu Ser His Phe Cys  
 20 25 30

Ser Gly

ES 2 899 616 T3

<210> 8  
 <211> 37  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Secuencia señal de CD80 de ratón  
 <400> 8

Met Ala Cys Asn Cys Gln Leu Met Gln Asp Thr Pro Leu Leu Lys Phe  
 1 5 10 15  
 Pro Cys Pro Arg Leu Ile Leu Leu Phe Val Leu Leu Ile Arg Leu Ser  
 20 25 30  
 Gln Val Ser Ser Asp  
 35

10 <210> 9  
 <211> 232  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Fc C237S  
 <400> 9

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 1 5 10 15  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 20 25 30  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 35 40 45  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 50 55 60  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 65 70 75 80  
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 85 90 95

ES 2 899 616 T3

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
 130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230

<210> 10  
 <211> 228  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Fc

<400> 10

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val  
 1 5 10 15

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 20 25 30

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 35 40 45

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
 50 55 60

10

ES 2 899 616 T3

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr  
65 70 75 80

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn  
85 90 95

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro  
100 105 110

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln  
115 120 125

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
130 135 140

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
145 150 155 160

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
165 170 175

Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr  
180 185 190

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
195 200 205

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
210 215 220

Ser Pro Gly Lys  
225

5 <210> 11  
<211> 229  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Fc

10 <400> 11

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe  
1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val



ES 2 899 616 T3

Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 100 105 110

Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
 130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230

<210> 13  
 <211> 232  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Mutante N297 de Fc de IgG1 humano

<400> 13

ES 2 899 616 T3

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
 1 5 10 15  
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
 20 25 30  
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
 35 40 45  
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
 50 55 60  
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
 65 70 75 80  
 Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
 85 90 95  
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
 100 105 110  
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 115 120 125  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
 130 135 140  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 145 150 155 160  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 165 170 175  
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 180 185 190  
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 195 200 205  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 210 215 220  
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230

<210> 14  
 <211> 232  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 899 616 T3

<220>

<223> Fc IgG1 humano

<400> 14

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
225 230

<210> 15

<211> 279

ES 2 899 616 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fc IgG3 humano

5 <400> 15

Glu	Leu	Lys	Thr	Pro	Leu	Gly	Asp	Thr	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Arg	Cys	1	5	10	15
Pro	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	20	25	30	
Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	Glu	35	40	45	
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Thr	Pro	Pro	Pro	Cys	Pro	Arg	Cys	Pro	Ala	Pro	50	55	60	
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	65	70	75	80
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	85	90	95	
Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Lys	Trp	Tyr	Val	Asp	100	105	110	
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	115	120	125	
Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	130	135	140	
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	145	150	155	160
Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	165	170	175	

ES 2 899 616 T3

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys  
 180 185 190

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp  
 195 200 205

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Asn  
 210 215 220

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser  
 225 230 235 240

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile Phe Ser  
 245 250 255

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser  
 260 265 270

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 275

<210> 16  
 <211> 229  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Fc IgG4 humano

<400> 16

5

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe  
 1 5 10 15

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr  
 20 25 30

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val  
 35 40 45

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val  
 50 55 60

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser  
 65 70 75 80

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu  
 85 90 95

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser

10

ES 2 899 616 T3

100 105 110

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro  
 115 120 125

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln  
 130 135 140

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala  
 145 150 155 160

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr  
 165 170 175

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu  
 180 185 190

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser  
 195 200 205

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser  
 210 215 220

Leu Ser Leu Gly Lys  
 225

<210> 17  
 <211> 442  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> ECD de CD80 de ratón Fc IgG2a de ratón

<400> 17

Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys Ser Val Lys Asp Lys Val Leu Leu Pro  
 1 5 10 15

Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His Glu Asp Glu Ser Glu Asp Arg Ile Tyr  
 20 25 30

Trp Gln Lys His Asp Lys Val Val Leu Ser Val Ile Ala Gly Lys Leu  
 35 40 45

Lys Val Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Leu Tyr Asp Asn Thr Thr  
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly Leu Val Leu Ser Asp Arg Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

5

10

ES 2 899 616 T3

Ser Cys Val Val Gln Lys Lys Glu Arg Gly Thr Tyr Glu Val Lys His  
85 90 95

Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser Ile Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Asn  
100 105 110

Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro Ser Ala Asp Thr Lys Arg Ile Thr Cys  
115 120 125

Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro Lys Pro Arg Phe Ser Trp Leu Glu Asn  
130 135 140

Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile Asn Thr Thr Ile Ser Gln Asp Pro Glu  
145 150 155 160

Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser Ser Gln Leu Asp Phe Asn Thr Thr Arg  
165 170 175

Asn His Thr Ile Lys Cys Leu Ile Lys Tyr Gly Asp Ala His Val Ser  
180 185 190

Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys Pro Pro Glu Asp Pro Pro Asp Ser Lys  
195 200 205

Asn Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys  
210 215 220

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro  
225 230 235 240

Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys  
245 250 255

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp  
260 265 270

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg  
275 280 285

Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln  
290 295 300

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn  
305 310 315 320

Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly



ES 2 899 616 T3

Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser Ile Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Asn  
 100 105 110  
 Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro Ser Ala Asp Thr Lys Arg Ile Thr Cys  
 115 120 125  
 Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro Lys Pro Arg Phe Ser Trp Leu Glu Asn  
 130 135 140  
 Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile Asn Thr Thr Ile Ser Gln Asp Pro Glu  
 145 150 155 160  
 Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser Ser Gln Leu Asp Phe Asn Thr Thr Arg  
 165 170 175  
 Asn His Thr Ile Lys Cys Leu Ile Lys Tyr Gly Asp Ala His Val Ser  
 180 185 190  
 Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys Pro Pro Glu Asp Pro Pro Asp Ser Lys  
 195 200 205  
 Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
 210 215 220  
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 225 230 235 240  
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 245 250 255  
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 260 265 270  
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285  
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
 290 295 300  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
 305 310 315 320  
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
 325 330 335  
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

ES 2 899 616 T3

340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
 355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 19  
 <211> 441  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> ECD de CD80 de ratón Fc IgG1 humano MT (234, 235, 331)

<400> 19

Val Asp Glu Gln Leu Ser Lys Ser Val Lys Asp Lys Val Leu Leu Pro  
 1 5 10 15

Cys Arg Tyr Asn Ser Pro His Glu Asp Glu Ser Glu Asp Arg Ile Tyr  
 20 25 30

Trp Gln Lys His Asp Lys Val Val Leu Ser Val Ile Ala Gly Lys Leu  
 35 40 45

Lys Val Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Leu Tyr Asp Asn Thr Thr  
 50 55 60

Tyr Ser Leu Ile Ile Leu Gly Leu Val Leu Ser Asp Arg Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Ser Cys Val Val Gln Lys Lys Glu Arg Gly Thr Tyr Glu Val Lys His  
 85 90 95

Leu Ala Leu Val Lys Leu Ser Ile Lys Ala Asp Phe Ser Thr Pro Asn  
 100 105 110

5

10

ES 2 899 616 T3

Ile Thr Glu Ser Gly Asn Pro Ser Ala Asp Thr Lys Arg Ile Thr Cys  
115 120 125

Phe Ala Ser Gly Gly Phe Pro Lys Pro Arg Phe Ser Trp Leu Glu Asn  
130 135 140

Gly Arg Glu Leu Pro Gly Ile Asn Thr Thr Ile Ser Gln Asp Pro Glu  
145 150 155 160

Ser Glu Leu Tyr Thr Ile Ser Ser Gln Leu Asp Phe Asn Thr Thr Arg  
165 170 175

Asn His Thr Ile Lys Cys Leu Ile Lys Tyr Gly Asp Ala His Val Ser  
180 185 190

Glu Asp Phe Thr Trp Glu Lys Pro Pro Glu Asp Pro Pro Asp Ser Lys  
195 200 205

Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro  
210 215 220

Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu  
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
355 360 365

ES 2 899 616 T3

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
 405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 20

<211> 440

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> ECD de CD80 humano Fc IgG1 humano WT

<400> 20

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys  
 1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp  
 20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn  
 35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn  
 50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr  
 65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His  
 85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser  
 100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys  
 115 120 125

10

ES 2 899 616 T3

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn  
130 135 140

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu  
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr  
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn  
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn  
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
210 215 220

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
305 310 315 320

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
370 375 380

ES 2 899 616 T3

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
385 390 395 400

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440

<210> 21

<211> 440

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> ECD de CD80 humano Fc IgG1 L234F, L235E, P331S MT humano

<400> 21

Val Ile His Val Thr Lys Glu Val Lys Glu Val Ala Thr Leu Ser Cys  
1 5 10 15

Gly His Asn Val Ser Val Glu Glu Leu Ala Gln Thr Arg Ile Tyr Trp  
20 25 30

Gln Lys Glu Lys Lys Met Val Leu Thr Met Met Ser Gly Asp Met Asn  
35 40 45

Ile Trp Pro Glu Tyr Lys Asn Arg Thr Ile Phe Asp Ile Thr Asn Asn  
50 55 60

Leu Ser Ile Val Ile Leu Ala Leu Arg Pro Ser Asp Glu Gly Thr Tyr  
65 70 75 80

Glu Cys Val Val Leu Lys Tyr Glu Lys Asp Ala Phe Lys Arg Glu His  
85 90 95

Leu Ala Glu Val Thr Leu Ser Val Lys Ala Asp Phe Pro Thr Pro Ser  
100 105 110

Ile Ser Asp Phe Glu Ile Pro Thr Ser Asn Ile Arg Arg Ile Ile Cys  
115 120 125

Ser Thr Ser Gly Gly Phe Pro Glu Pro His Leu Ser Trp Leu Glu Asn  
130 135 140

10

ES 2 899 616 T3

Gly Glu Glu Leu Asn Ala Ile Asn Thr Thr Val Ser Gln Asp Pro Glu  
145 150 155 160

Thr Glu Leu Tyr Ala Val Ser Ser Lys Leu Asp Phe Asn Met Thr Thr  
165 170 175

Asn His Ser Phe Met Cys Leu Ile Lys Tyr Gly His Leu Arg Val Asn  
180 185 190

Gln Thr Phe Asn Trp Asn Thr Thr Lys Gln Glu His Phe Pro Asp Asn  
195 200 205

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
210 215 220

Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
225 230 235 240

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
245 250 255

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val  
260 265 270

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
275 280 285

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
290 295 300

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala  
305 310 315 320

Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
325 330 335

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
340 345 350

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
355 360 365

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
370 375 380

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
385 390 395 400

ES 2 899 616 T3

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 405 410 415

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 420 425 430

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 22

<211> 288

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Precursor de PD-1 humano (con secuencia señal) UniProtKB/Swiss-Prot: Q15116.3, 01-OCT-2014

<400> 22

Met Gln Ile Pro Gln Ala Pro Trp Pro Val Val Trp Ala Val Leu Gln  
 1 5 10 15

Leu Gly Trp Arg Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp  
 20 25 30

Asn Pro Pro Thr Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp  
 35 40 45

Asn Ala Thr Phe Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val  
 50 55 60

Leu Asn Trp Tyr Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala  
 65 70 75 80

Ala Phe Pro Glu Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg  
 85 90 95

Val Thr Gln Leu Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg  
 100 105 110

Ala Arg Arg Asn Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu  
 115 120 125

Ala Pro Lys Ala Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val  
 130 135 140

Thr Glu Arg Arg Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro  
 145 150 155 160

10

ES 2 899 616 T3

Arg Pro Ala Gly Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly  
 165 170 175

Leu Leu Gly Ser Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys  
 180 185 190

Ser Arg Ala Ala Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro  
 195 200 205

Leu Lys Glu Asp Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly  
 210 215 220

Glu Leu Asp Phe Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro  
 225 230 235 240

Cys Val Pro Glu Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly  
 245 250 255

Met Gly Thr Ser Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg  
 260 265 270

Ser Ala Gln Pro Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu  
 275 280 285

<210> 23  
 <211> 268  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> PD-1 humana (madura, sin secuencia señal)

<400> 23

5

10

Pro Gly Trp Phe Leu Asp Ser Pro Asp Arg Pro Trp Asn Pro Pro Thr  
 1 5 10 15

Phe Ser Pro Ala Leu Leu Val Val Thr Glu Gly Asp Asn Ala Thr Phe  
 20 25 30

Thr Cys Ser Phe Ser Asn Thr Ser Glu Ser Phe Val Leu Asn Trp Tyr  
 35 40 45

Arg Met Ser Pro Ser Asn Gln Thr Asp Lys Leu Ala Ala Phe Pro Glu  
 50 55 60

Asp Arg Ser Gln Pro Gly Gln Asp Cys Arg Phe Arg Val Thr Gln Leu  
 65 70 75 80

ES 2 899 616 T3

Pro Asn Gly Arg Asp Phe His Met Ser Val Val Arg Ala Arg Arg Asn  
 85 90 95

Asp Ser Gly Thr Tyr Leu Cys Gly Ala Ile Ser Leu Ala Pro Lys Ala  
 100 105 110

Gln Ile Lys Glu Ser Leu Arg Ala Glu Leu Arg Val Thr Glu Arg Arg  
 115 120 125

Ala Glu Val Pro Thr Ala His Pro Ser Pro Ser Pro Arg Pro Ala Gly  
 130 135 140

Gln Phe Gln Thr Leu Val Val Gly Val Val Gly Gly Leu Leu Gly Ser  
 145 150 155 160

Leu Val Leu Leu Val Trp Val Leu Ala Val Ile Cys Ser Arg Ala Ala  
 165 170 175

Arg Gly Thr Ile Gly Ala Arg Arg Thr Gly Gln Pro Leu Lys Glu Asp  
 180 185 190

Pro Ser Ala Val Pro Val Phe Ser Val Asp Tyr Gly Glu Leu Asp Phe  
 195 200 205

Gln Trp Arg Glu Lys Thr Pro Glu Pro Pro Val Pro Cys Val Pro Glu  
 210 215 220

Gln Thr Glu Tyr Ala Thr Ile Val Phe Pro Ser Gly Met Gly Thr Ser  
 225 230 235 240

Ser Pro Ala Arg Arg Gly Ser Ala Asp Gly Pro Arg Ser Ala Gln Pro  
 245 250 255

Leu Arg Pro Glu Asp Gly His Cys Ser Trp Pro Leu  
 260 265

<210> 24

<211> 290

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Precursor de PD-L1 humano (con secuencia señal) UniProtKB/Swiss-Prot:Q9NZQ7.1, 01-OCT-2014

<400> 24

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu  
 1 5 10 15

5

10

ES 2 899 616 T3

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr  
 20 25 30

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu  
 35 40 45

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile  
 50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser  
 65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn  
 85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr  
 100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val  
 115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val  
 130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr  
 145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser  
 165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn  
 180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr  
 195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu  
 210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His  
 225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr  
 245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys  
 260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu  
 275 280 285

Glu Thr  
 290

ES 2 899 616 T3

<210> 25  
 <211> 272  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> PD-L1 humano (maduro, sin secuencia señal)  
 <400> 25

```

Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr Gly Ser
1          5          10          15

Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu Asp Leu
20        25        30

Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile Ile Gln
35        40        45

Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser Tyr Arg
50        55        60

Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn Ala Ala
65        70        75        80

Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr Arg Cys
85        90        95

Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val Lys Val
100       105       110

Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val Asp Pro
115       120       125

Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr Pro Lys
130       135       140

Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser Gly Lys
145       150       155       160

Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn Val Thr
165       170       175
  
```

ES 2 899 616 T3

Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr Cys Thr  
180 185 190

Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu Val Ile  
195 200 205

Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His Leu Val  
210 215 220

Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr Phe Ile  
225 230 235 240

Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys Gly Ile  
245 250 255

Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu Glu Thr  
260 265 270

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para determinar la actividad de una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 en un sujeto que comprende determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 al sujeto, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano.
2. Un método para detectar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o proliferación de linfocitos T de memoria central en un sujeto que comprende (a) proporcionar una muestra obtenida del sujeto después de que se haya administrado una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 al sujeto y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en la muestra, donde la molécula de fusión del ECD del CD80 comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, que comprende además designar el sujeto al que se va a administrar con la molécula de fusión del ECD del CD80 después de determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en la muestra, opcionalmente donde el sujeto tiene cáncer.
4. Una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en un método de tratamiento de cáncer en un sujeto que comprende (a) administrar al sujeto dicha molécula de fusión del ECD del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano; y (b) determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y/o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto después de la administración.
5. La molécula de fusión para su uso según la reivindicación 4, que comprende además determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central o detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración de la molécula de fusión.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5
  - a) que comprende determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central, pero no detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central, o
  - b) que comprende detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central, pero no determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central, o
  - c) que comprende determinar la frecuencia de linfocitos T de memoria central y detectar la proliferación de linfocitos T de memoria central.
7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 6a o 6c, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 o 6a o 6c, donde la frecuencia se determina usando citometría de flujo.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 6b-6c, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-5 o 6b-6c, donde la proliferación se detecta usando citometría de flujo, opcionalmente donde la proliferación se detecta midiendo la expresión de Ki67, además opcionalmente donde la proliferación se detecta en una muestra obtenida al menos 7 días después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80.
9. Una molécula de fusión del dominio extracelular (ECD) del CD80 que comprende un polipéptido del ECD del CD80 humano y un dominio Fc de IgG1 humano para su uso en un método de tratamiento de cáncer en un sujeto que comprende administrar al sujeto dicha molécula de fusión del ECD del CD80, donde
  - (a) la frecuencia de linfocitos T de memoria central se ha determinado en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración, y/o
  - (b) la proliferación de linfocitos T de memoria central se ha detectado en una muestra obtenida del sujeto antes de la administración.
10. La molécula de fusión para su uso según la reivindicación 9, donde

- a) se ha determinado la frecuencia de linfocitos T de memoria central, pero no se ha detectado la proliferación de linfocitos T de memoria central, o
- b) se ha detectado la proliferación de linfocitos T de memoria central, pero no se ha determinado la frecuencia de linfocitos T de memoria central, o
- 5 c) se ha determinado la frecuencia de linfocitos T de memoria central y se ha detectado la proliferación de linfocitos T de memoria central.
11. La molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10a o 10c, donde la frecuencia se ha determinado mediante el uso de citometría de flujo.
- 10 12. La molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10b o 10c, donde la proliferación se ha detectado usando citometría de flujo, o donde la proliferación se ha determinado midiendo la expresión de Ki67, además opcionalmente donde la proliferación se ha detectado en una muestra obtenida al menos 7 días después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80.
13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o 6-8, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-12, donde la muestra es una muestra de sangre o una muestra de plasma.
- 15 14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8 o 13, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-13, donde los linfocitos T de memoria central son linfocitos CD95+ y CD28+.
- 20 15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8, 13 o 14, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-14, donde los linfocitos T de memoria central son linfocitos T CD4+ de memoria central, o donde los linfocitos T de memoria central son linfocitos T CD8+ de memoria central, o donde los linfocitos T de memoria central son linfocitos T CD4+ y CD8+ de memoria central.
- 25 16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8 o 13-15, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-15, donde la muestra obtenida después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 se obtiene al menos una semana después de la administración, o donde la muestra obtenida después de administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 se obtiene al menos dos semanas después de la administración, o donde la muestra obtenida después de la administración de la molécula de fusión del ECD del CD80 se obtiene al menos un mes después de la administración.
- 30 17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8 o 13-16, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-16, donde el polipéptido del ECD del CD80 humano comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 4; opcionalmente donde dominio Fc de IgG1 humano comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14.
- 35 18. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8 o 13-16, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-16, donde la molécula de fusión comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 o SEQ ID NO: 21, opcionalmente donde la molécula de fusión comprende 10-60, 15-40, 15-25 o 15-30 moléculas de ácido siálico (SA).
- 40 19. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3, 6-8 y 13-18, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-18, donde el cáncer es un tumor sólido, donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer gástrico, cáncer pulmonar no microcítico, melanoma, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, cáncer de ovario, cáncer pancreático, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, cáncer de vejiga y cáncer de endometrio, y/o donde el cáncer es recurrente o progresivo después de una terapia seleccionada del grupo que consiste en cirugía, quimioterapia, radioterapia, y una combinación de estas.
20. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8 o 13-19, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-19, donde la molécula de fusión se administra en combinación con un inhibidor de la muerte celular programada 1 (PD-1) / ligando de muerte celular programada 1 (PD-L1), opcionalmente
- a) donde el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo, donde
- 45 (i) el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-1, y donde el anticuerpo anti-PD-1 comprende las CDR de cadena pesada y cadena ligera de nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab, o donde el anticuerpo anti-PD-

1 comprende las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab, o donde el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, pidilizumab o pembrolizumab, o

5 (ii) donde el inhibidor de PD-1/PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1, y donde el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las CDR de cadena pesada y cadena ligera de avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559, o donde el anticuerpo anti-PD-L1 comprende las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559, o donde el anticuerpo anti-PD-L1 es avelumab, durvalumab, atezolizumab o BMS-936559;

b) donde el inhibidor de PD-1/PD-L1 es una molécula de fusión de PD-1, opcionalmente donde la molécula de fusión es AMP-224, o

10 c) donde el inhibidor de PD-1/PD-L1 es AUR-012.

21. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, 6-8 o 13-20, o la molécula de fusión para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 4-20, donde la molécula de fusión se administra en combinación con una vacuna contra el cáncer, opcionalmente donde la vacuna contra el cáncer es una vacuna personalizada contra el cáncer.

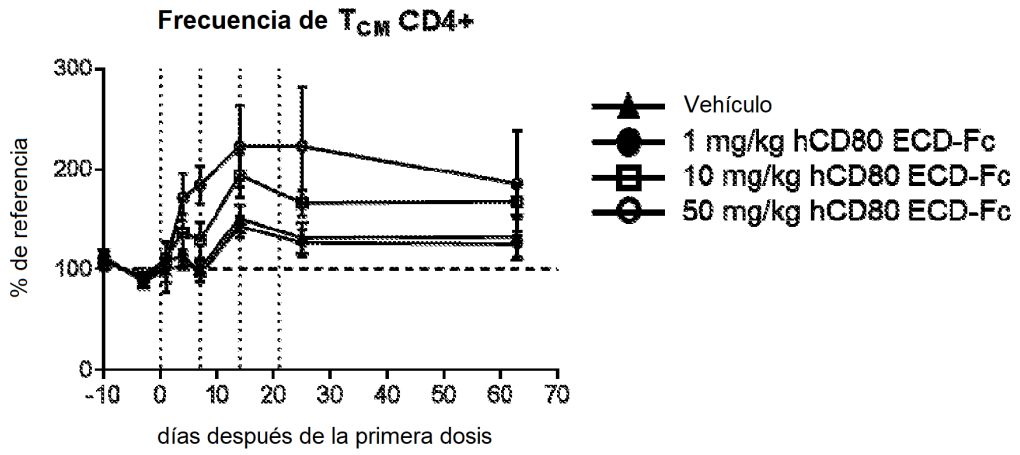


Fig. 1

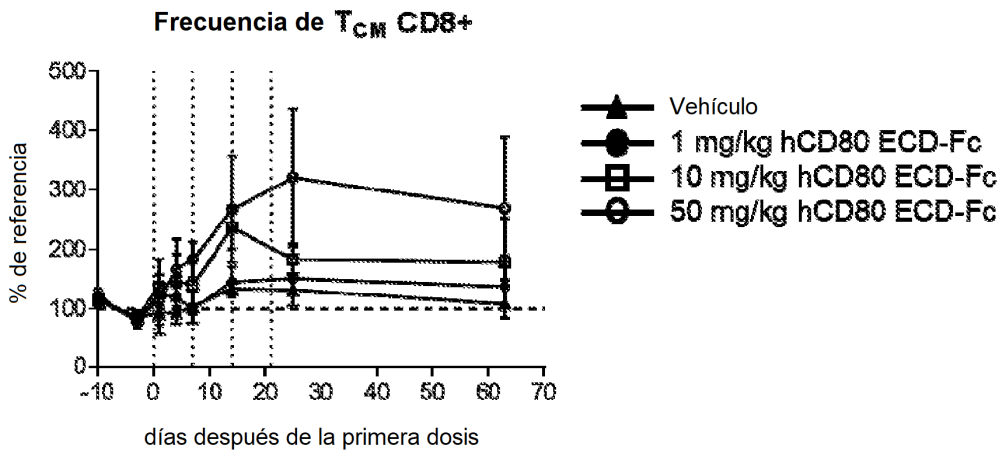


Fig. 2

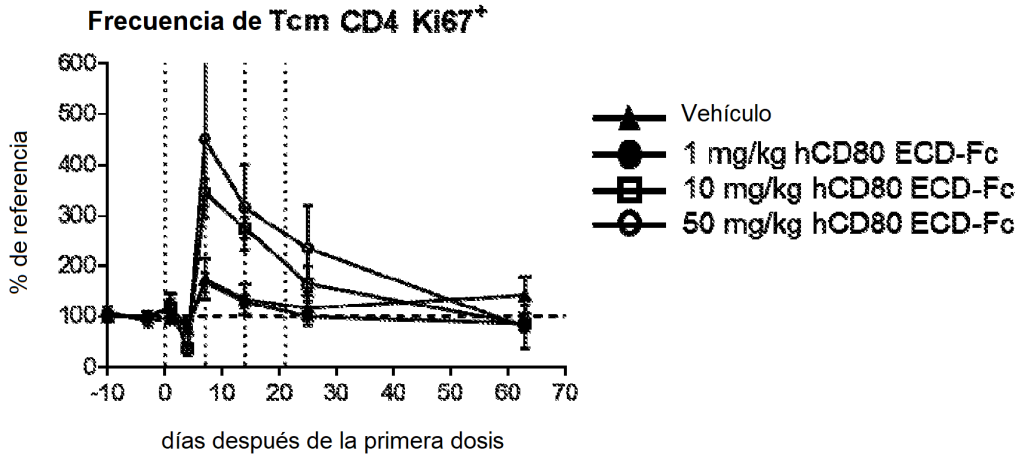


Fig. 3

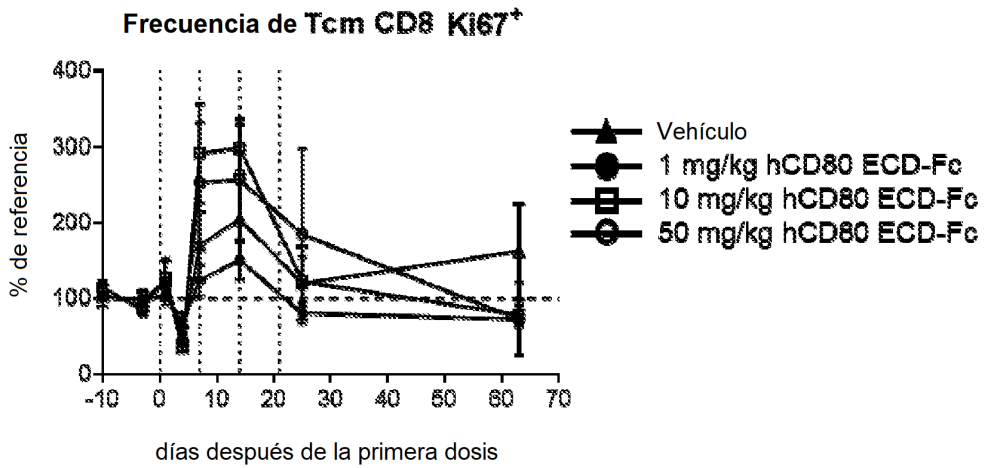


Fig. 4