

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 981 730**

(51) Int. Cl.:

C07K 16/00 (2006.01)
C07K 16/24 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.02.2017 PCT/EP2017/052545**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **10.08.2017 WO17134302**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2017 E 17704697 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2024 EP 3411398**

(54) Título: **Agentes terapéuticos dirigidos y usos de los mismos**

(30) Prioridad:

05.02.2016 US 201662291769 P
05.02.2016 US 201662291772 P
05.02.2016 US 201662291774 P
05.02.2016 US 201662291776 P
05.02.2016 US 201662291779 P
13.05.2016 US 201662335880 P
13.05.2016 US 201662335965 P
13.05.2016 US 201662335968 P
13.05.2016 US 201662335979 P
13.05.2016 US 201662336030 P
23.06.2016 US 201662353607 P
24.10.2016 US 201662411805 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.10.2024

(73) Titular/es:

ORIONIS BIOSCIENCES BV (33.3%)
Rijvisschestraat 120
9052 Zwijnaarde, BE;
VIB VZW (33.3%) y
UNIVERSITEIT GENT (33.3%)

(72) Inventor/es:

**TAVERNIER, JAN y
KLEY, NIKOLAI**

(74) Agente/Representante:

GONZÁLEZ PESES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 981 730 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

Agentes terapéuticos dirigidos y usos de los mismos

5 **CAMPO**

La presente invención se refiere, en parte, a agentes terapéuticos dirigidos.

10 **ANTECEDENTES**

A diferencia de las terapias convencionales contra el cáncer, tales como la quimioterapia y la radiación, las inmunoterapias ofrecen la ventaja de la especificidad celular contra las células cancerosas. En concreto, las inmunoterapias atacan directamente a las células cancerosas induciendo, potenciando o suprimiendo la respuesta inmunitaria del propio paciente. Por ello, los procedimientos para mejorar la eficacia de las terapias inmunológicas pueden ser clínicamente beneficiosos. Sin embargo, a pesar de las impresionantes respuestas de los pacientes a los agentes dirigidos a las moléculas inmunitarias coestimuladoras y coinhibidoras, incluyendo, por ejemplo, los ensayos clínicos que condujeron a la aprobación de YERVOY, KEYTRUDA y OPDIVO, las inmunoterapias tales como la terapia de inhibición de los puntos de control siguen fracasando en la inmensa mayoría de los pacientes. Además, muchas inmunoterapias se complican con efectos secundarios que reducen significativamente la ventana terapéutica del paciente para el tratamiento y lo hacen más susceptible a otras enfermedades.

En consecuencia, sigue existiendo la necesidad de agentes inmunoterapéuticos mejorados que puedan proporcionar una terapia dirigida contra los cánceres causando al mismo tiempo efectos secundarios mínimos.

25 El documento WO 2015/018528 A1 divulga una inmunocitoquina que comprende IL15, el dominio sushi de IL-15R α , y un anticuerpo inmunomodulador. El documento US 2013/230517 A1 divulga una molécula de fusión que comprende un anticuerpo contra un antígeno asociado a un tumor y una molécula de IFN- α mutante. Garcin et al. (Nature Comm. 2014, 5:3016) divulgán un IFN- α 2 humano mutante con actividad reducida, cuya actividad se restablece mediante fusión con nanocuerpos dirigidos a proteínas marcadoras.

30 **SUMARIO**

35 La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

En algunos aspectos, la presente invención se refiere a proteínas químéricas que tienen una fracción objetivo que tiene un dominio de reconocimiento que se une específicamente al ligando 1 de la proteína de muerte celular programada (PD-L1), en donde el dominio de reconocimiento comprende un anticuerpo de longitud completa, un anticuerpo de dominio único, un anticuerpo recombinante de cadena pesada-solamente (VHH), un anticuerpo de cadena única (scFv), un anticuerpo de cadena pesada-solamente de tiburón (VNAR), un Fv, un Fab, un Fab', un F(ab') $_2$.

40 La proteína químérica comprende además un agente de señalización modificado (*por ejemplo*, mutante). El agente de señalización modificado es interferón- α 2 humano que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 98% de identidad con una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 179 o 180 y que tiene una o más mutaciones en las posiciones 144-154; en el que el IFN α 2 humano mutado tiene una afinidad o actividad reducida en comparación con el IFN α 2 humano de tipo silvestre, y en el que la afinidad o actividad reducida del IFN α 2 humano mutado es restaurable por unión a la fracción objetivo.

45 50 En algunas realizaciones, la fracción objetivo y el agente de señalización modificado (*por ejemplo*, mutante) están conectados por uno o más enlazadores.

55 Las presentes proteínas químéricas se utilizan en el tratamiento de diversas enfermedades o trastornos tales como el cáncer, las infecciones, los trastornos inmunitarios y las enfermedades autoinmunitarias, y la presente invención abarca diversos procedimientos de tratamiento.

60 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

65 La FIG. 1 muestra ratones C57BL/6 fueron inoculados por vía subcutánea (50 μ l) con 6×10^5 células tumorales de melanoma B16mCD20cl1. El tratamiento perilesional con 120 μ g de un VHH anti-PD-L1 (120 μ l) o una fusión de un VHH anti-PD-L1 con IFN α humana, mutante Q124R se inició cuando los tumores alcanzaron un tamaño de ± 10 mm 2 medido con calibrador. Las curvas están en el mismo orden (de arriba a abajo) que en la leyenda de la figura que identifica los tipos de tratamiento (*por ejemplo*, PBS es la curva superior, anti-PD-L1 es la curva central, y la curva inferior es la fusión de un VHH anti-PD-L1 con IFN α humana, mutante Q124R).

La FIG. 2 muestra, en los paneles A-G, datos de seguridad que se corresponden con los datos de eficacia de la FIG. 1. En el panel A, se muestra el peso de los ratones para todos los tipos de tratamiento. En los paneles B-G, todos los datos se presentan como histogramas en conjuntos de tres que son, de izquierda a derecha: PBS, VHH anti-PD-L1, y fusión de un VHH anti-PD-L1 con IFNalfa humano, Q124R.

5 Se muestran el recuento de glóbulos blancos ("wbc") y el recuento de linfocitos ("ly") (panel B), el recuento de neutrófilos ("ne") y el recuento de monocitos ("mo") (panel C); el recuento de hematíes ("rbc") y la hemoglobina ("hb") (panel D); hemocrito ("hct"), volumen corpuscular medio ("mcv"), hemoglobina corpuscular media ("mch"), concentración de hemoglobina corpuscular media ("mchc") (panel E); hematíes picados ("pit") (panel F); y volumen plaquetario medio ("mpv") (panel G).

10 La FIG. 3 muestra el efecto de una dilución en serie de VHHS anti-PD-1 humanos, VHHS anti-PD-L1 humanos, VHHS anti-PD-L1 de ratón o VHHS irrelevantes cuando se prueban en un ensayo de unión a placa PD1/PD-L1. Se representa la media ± desviación estándar de mediciones por triplicado. En el punto 10.000, las curvas de arriba a abajo son: VHHS anti-ratón PD-L1, VHHS irrelevantes, VHHS anti-humanos PD-1, y VHHS anti-humanos PD-L1.

15 La FIG. 4 muestra un experimento en el que se estimularon células MDA-MB-321 con una dilución en serie de quimeras anti-PD-L1/IFN atenuado y se tiñeron para fosfo STAT1. Los datos se representan como intensidades fluorescentes medias (IFM). La curva superior es anti PD-L1 humano VHH/humano IFN R149A.

20 La FIG. 5 muestra un ensayo de señalización pSTAT1 en células dendríticas humanas. Las quimeras estudiadas fueron anti PD-L1 humano VHH/IFN humano R149A y anti PD-L1 humano VHH/IFN humano R33A/E120R. Se estudiaron dos dosis de los agentes: 100 ng/ml y 500 ng/ml. PBS fue el control y los datos se expresan como un cambio de plegamiento del porcentaje de pSTAT1 + células dendríticas (los datos son una media de un conjunto de datos por triplicado).

25 DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención proporciona proteínas químéricas de acuerdo con las reivindicaciones 1-10 con un agente de señalización portador de mutaciones terapéuticamente beneficiosas y una fracción objetivo que dirige el agente de señalización a sitios que necesitan acción terapéutica (por ejemplo, una célula tumoral) o que son apropiados para la acción terapéutica (por ejemplo, una célula inmunitaria). La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden las proteínas químéricas. La administración de las proteínas químéricas y las composiciones farmacéuticas de la invención consigue reducir significativamente los efectos secundarios en comparación con el agente de señalización de tipo salvaje.

35 Fracciones objetivo

La presente proteína químérica tiene una fracción dirigida contra el ligando 1 de PD-1 (PD-L1; también conocido como B7-H1 y CD274).

40 En una realización, la fracción objetivo comprende un anticuerpo. En diversas realizaciones, el anticuerpo es una proteína multimérica de longitud completa que incluye dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. Cada cadena pesada incluye una región variable (por ejemplo, V_H) y al menos tres regiones constantes (por ejemplo, CH₁, CH₂ y CH₃), y cada cadena ligera incluye una región variable (V_L) y una región constante (C_L). Las regiones variables determinan la especificidad del anticuerpo. Cada región variable comprende tres regiones hipervariables, también conocidas como regiones determinantes de la complementariedad (CDR), flanqueadas por cuatro regiones marco (FR) relativamente conservadas. Las tres CDR, denominadas CDR1, CDR2 y CDR3, contribuyen a la especificidad de unión del anticuerpo. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo químérico. En algunas realizaciones, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

45 En algunas realizaciones, la molécula objetivo comprende derivados o formatos de anticuerpos. En algunas realizaciones, la fracción objetivo de la presente proteína químérica es un anticuerpo de dominio único, un anticuerpo recombinante de cadena pesada (VHH), un Fv, un Fab, un Fab', o un F(ab')₂, tal como se describe en las Patentes Nos. o de Publicación de Patentes Nos. US 7,417,130, US 2004/132094, US 5,831,012, US 2004/023334, US 7,250,297, US 6,818,418, US 2004/209243, US 7,838,629, US 7,186,524, US 6,004,746, US 5,475,096, US 2004/146938, US 2004/157209, US 6,994,982, US 6,794,144, US 2010/239633, US 7,803,907, US 2010/119446, y/o US 7,166,697. Véase también, Storz MAbs. 2011 mayo-junio; 3(3): 310-317.

50 En una realización, la molécula objetivo comprende un anticuerpo de dominio único, tal como VHH de, por ejemplo, un organismo que produce anticuerpos VHH tal como un camélido, un tiburón o un VHH diseñado. Los VHH son proteínas terapéuticas derivadas de anticuerpos que contienen las propiedades estructurales y funcionales únicas de los anticuerpos de cadena pesada naturales. La tecnología VHH se basa en anticuerpos totalmente funcionales de camélidos que carecen de cadenas ligeras. Estos anticuerpos de cadena pesada contienen un único dominio variable (VHH) y dos dominios constantes (CH₂ y CH₃). Los VHH se comercializan bajo la marca NANOBODIES.

55 La presente proteína químérica tiene una fracción objetivo dirigida contra PD-L1. En algunas realizaciones, la

proteína quimérica tiene una fracción objetivo que se une selectivamente a un polipéptido PD-L1. En algunas realizaciones, la proteína quimérica incluye un anticuerpo, un derivado de anticuerpo o un formato que se une selectivamente a un polipéptido PD-L1.

- 5 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 MEDI4736 (también conocido como durvalumab), o fragmentos del mismo. MEDI4736 es selectivo para PD-L1 y bloquea la unión de PD-L1 a los receptores PD-1 y CD80. MEDI4736 y los fragmentos de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprenden una cadena pesada y una cadena ligera o una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera. La secuencia del MEDI4736 10 se divulga en el documento WO/2016/06272. En realizaciones ilustrativas, MEDI4736 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

```
EVOLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS RYWMSWVRQA PGKGLEWVAN
IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAREG
GWFGEALAFDY WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV
KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSLGTQ
TYICNVNHKP SNTKVDKRVE PKSCDKTHTC PPCPAPFFEG GPSVFLFPPK
PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTPREEQY
NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPASIEKTI SKAKGQPREP
QVYTLPPSRE EMTKNQVSLT CLVKGFYP PSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP
VLSDGDSFFL YSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNHY TQKSLSLSPG
K (SEQ ID NO: 37);
```

- 15 y/o una cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

```
EIVLTQSPGT LSLSPGERAT LSCRASQRVS SSYLAWSQQK PGQAPRLLIY
DASSRATGIP DRFSGSGSGT DFTLTISRLE PEDFAVYYCQ QYGSILPWTFG
QGKVEIKRT VAAFSVFIIP PSDEQLKSGT ASVVCILNNF YPREAKVQWK
VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ
GLSSPVTKSF NRGEK (SEQ ID NO: 38).
```

- 20 En realizaciones ilustrativas, el MEDI4736 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 del documento WO/2016/06272:

```
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGEALAFDYWGQGTLVTVS
S (SEQ ID NO: 39);
```

- 25 y/o una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 del documento WO/2016/06272:

```
EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWSQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSILPWTFGQGKVEIK (SEQ ID NO: 40)
```

- 30 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 atezolizumab (también conocido como MPDL3280A, RG7446), o fragmentos del mismo. En realizaciones ilustrativas, el atezolizumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAIISPYGGSTYYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGGFDWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCTPCPAPELLGGPSVFLFPPKPDTLMISRTPETCVVVDSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQYASTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 41);

y/o una cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPSRFSGSGSTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYLYHPATFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP
5 VTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 42).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 avelumab (alias MSB0010718C), o fragmentos del mismo. En realizaciones ilustrativas, avelumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

10

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYIMMWVRQA PGKGLEWVSS
IYPGGITFY ADTVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARIK
LGVTTVDYW GQGTLTVSS ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK
DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQTY
15 YICNVNHKPS NTKVDKKVEP KSCDKTHTCP PCPAPELLGG PSVFLFPPKP
KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNAAKTPREEQYN
STYRVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREG
VYTLPSSRDE LTKNQVSLLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTPPPV
LDSDGSSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
(SEQ ID NO: 43);

y/o una cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

QSALTQPASV SGSPGQSITI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQQ HPGKAPKLMI
YDVSNRPSGV SNRFSGSKSG NTASLTISGL QAEDEADYYC SSYTSSSTRV
FGTGTKVTVL GQPKANPTVT LFPPSSEELQ ANKATLVCLI SDFYPGAVTV
20 AWKADGSPVK AGVETTKPSK QSNNKYAASS YLSLTPEQWK SHRSYSCQVT
HEGSTVEKTV APTECS (SEQ ID NO: 44).

15

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 BMS-936559 (alias 12A4, MDX-1105), o fragmentos del mismo, según se divulga en el documento US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, BMS-936559 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

20

QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKTSGDTFSTYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGKAHY
AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 45);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

25

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPA
RFSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTTVKEIK (SEQ ID NO: 46).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 3G10, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 3G10 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

5 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYGSWVRQAPGQGLEWMGWITAYNGNTNY
AQKLFQGRVTMTTDSTSTVYMERSLRSDDTAVYYCARDYFYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 47);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

10 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 48).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 10A5, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos. US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 10A5 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

15 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDVHWRQAPGQRLEWMWLHADTGITKF
SQKFQGRVTIRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARERIQLWFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 49);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

20 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWSYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 50).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 5F8, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 5F8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

25 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKVSGGIFSTYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANH
AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDQGIAALFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 51);

30 y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGGSPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 52).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 10H10, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 10H10 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAVSGFTFDDYVVHWVRQAPGKGLEWVSGISGNNSNIGY
ADSVKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAVPFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 53);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

DIQMTQSPSSLSASVGDRVТИCRAСQGИSSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 54).

5 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 1B12, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 1B12 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

10 QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKTSGDTFSSYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGRAHY
AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 55);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 56).

15 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 7H1, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 7H1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKTSGGTFSYYAI SWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGKAHY
AQKFQGRVTITADESTTTAYMELSSLRSEDTAVYYCARKYDYVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 57);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

25 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 58).

30 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 11E6, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 11E6 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAINWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGSANY
AQKFQDRVTITADESTAAYMELSSLRSEDTAVYYCARDSSGWSRYMDVWGQGTTVT
S (SEQ ID NO: 59);

35 y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIP
DRFSGSCSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSPPFGCGTKVEIK (SEQ ID NO: 60).

40 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 12B7, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 12B7 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente

documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

QVQLVQSGAEVKEPGSSVKVSCKASGGTFNSYAI SWVRQAPGQGLEWMGGI IPLFGIAHY
AQKFQGRVTITADESTNTAYMDLSSLRSEDTAVYYCARKYSYVSGSPFGMDVWGQGTTVT
VSS (SEQ ID NO: 61);

5

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLTYDASNRTGIPA
RFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO: 62).

10 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 13G4, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2013/0309250 y WO2007/005874. En realizaciones ilustrativas, 13G4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGITFDDYGMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNRGRIEY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKGRFRYFDWFLDYWGQGTLVTVS
S (SEQ ID NO: 63);

15

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 64).

20 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 1E12, o fragmentos del mismo, según se divulga en el documento US 2014/0044738. En realizaciones ilustrativas, 1E12 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

EVKLQESGPS LVKPSQTLSL TCSVTGYSIT SDYWNWIRKF PGNKLEYVGY
ISYTGSTYYN PSLKSRSISIT RDTSKNQYYL QLNSVTSEDT ATYYCARYGG
WLSPFDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 65);

25

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

DIVMTQSHKL MSTSVGDRVS ITCKASQDVGV TAVAWYQQKP GQSPKLLIYW
ASTRHTGVPD RFTGSGSGTD FTILTISNVQS EDLADYFCQQ DSSYPLTFGA
GTKVELK (SEQ ID NO: 66).

30 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 1F4, o fragmentos del mismo, según se divulga en el documento US 2014/0044738. En realizaciones ilustrativas, 1F4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

EVQLQESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLT TYSINWIROQ PGKGLEWLGV
MWAGGGTNSN SVLKSRLIIS KDNSKSQVFL KMNSLQTDDT ARYYCARYYG
NSPYAIDYW GQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 67);

35

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

ES 2 981 730 T3

DIVTTQSHKL MSTSVGDRVS ITCKASQDVG TAVAWYQQKP GQSPKLLIYW
ASTRHTGVPD RFTGSGSGTD FTILTISNVQS EDLADYFCQQ DSSYPLTFGA
GTKVELK (SEQ ID NO: 68).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2G11, o fragmentos del mismo, según se divulga en el documento US 2014/0044738. En realizaciones ilustrativas, 2G11 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

EVKLQESGPS LVKPSQTL SL TCSVTGYSII SDYWNWIRKF PGNKLEYLG
ISYTGSTYYN PSLKSRSIT RDTSKNQYYL QLNSVTTEDT ATYYCARRGG
WLLPFDYWGQ GTTLTVSS (SEQ ID NO: 69);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

10

DIVMTQSPSS LAWSVGEKVS MGCKSSQSL YSSNQKNSLA WYQQKPGQSP
KLLIDWASTR ESGVPDRFTG SGSQTDFTLT ISSVKAEDLA VYYCQQYYGY
PLTFGAGTKL ELK (SEQ ID NO: 70).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 3B6, o fragmentos del mismo, según se divulga en el documento US 2014/0044738. En realizaciones ilustrativas, 3B6 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

15

EVKLQESGPS LVKPGASVKL SCKASGYTFT SYDINWKQR PGQGLEWIGW
IFPRDNNTKY NENFKKGATL TVDTSSTTAY MELHSILTSED SAVYFCTKEN
WVGDFDYWGQ GTTLTLSS (SEQ ID NO: 71);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

20

DIVMTQSPAI MSASPGEKVT MTCASSSIR YMHWYQQKPG TSPKRWISDT
SKLTSGVPAR FSGSGSGTSY ALTISSMEA DAATYYCHQR SSYPWTFGGG
TKLEIK (SEQ ID NO: 72).

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 3D10, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos US 2014/0044738 y WO2012/145493. En realizaciones ilustrativas, 3D10 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

25

EVQLQQSGPD LVTPGASVRI SCQASGYTFP DYMMNWVKQS HGKSLEWIGD
IDPNYGGTTY NQKFKKGAIL TVDRSSSTAY MELRSILTSED SAVYYCARGA
LTDWGQGTSL TVSS (SEQ ID NO: 73);

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

30

QIVLSQSPAI LSASPGEKVT MTCRASSSVS YIYWFQQKPG SSPKPWIYAT
FNLASGVPAR FSGSGSGTSY SLTISRVE TE DAATYYCQOW SNNPLTFGAG
TKLEIK (SEQ ID NO: 74).

En una realización, la fracción objetivo comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en los documentos US2011/0271358 y WO2010/036959. En realizaciones ilustrativas, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 34-38 del documento US2011/0271358:

SEQ ID No: 34 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 75):

EVQLVQSGPELKKPGAVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQAPGQRLEWIGYVNPFNDGTY
NEMFKGRATLTSRKSTSTAYMELSSIRSEDSAVYYCARQAWGYPWGQGTLTVSS;

5 SEQ ID No: 35 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 76):

EVQLVQSGAEVKKPGAVKMSCKASGYTFTSYVMHWVKQAPGQRLEWIGYVNPFNDGTY
NEMFKGRATLTSRKSTSTAYMELSSIRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGTLTVSS;

10 SEQ ID No: 36 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 77):

EVQLVQSGAEVKKPGAVKMSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYVNPFNDGTY
NEMFKGRATLTSRKSTSTAYMELSSIRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGTLTVSS;

15 SEQ ID No: 37 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 78):

EVQLVQSGAEVKKPGAVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYVNPFNDGTY
NEMFKGRATLTSRKSTSTAYMELSSIRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGTLTVSS;

20 SEQ ID No: 38 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 79):

EVQLVQSGAEVKKPGAVKVSCKASGYTFTSYVMHWVRQAPGQRLEWIGYVNPFNDGTY
NEMFKGRATLTSRKSTSTAYMELSSIRSEDTAVYYCARQAWGYPWGQGTLTVSS;

25 y/o una cadena ligera que comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 39-42 del documento US2011/0271358:

SEQ ID No: 39 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 80):

DIVLTQSPASLALSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEEDAAMYFCQQSRRVPYTFGQGKLEIK;

30 SEQ ID No: 40 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 81):

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEEDAAMYFCQQSRRVPYTFGQGKLEIK;

35 SEQ ID No: 41 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 82):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEEDAAMYFCQQSRRVPYTFGQGKLEIK;

40 SEQ ID No: 42 del documento US2011/0271358 (SEQ ID NO: 83):

DIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRATESVEYYGTSLVQWYQQKPGQPPKLLIYAASSVDS
GVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEADAATYFCQQSRRVPYTFGQGKLEIK.

45 En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2.7A4, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 2.7A4 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

45 SEQ ID No: 2 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 84):

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSGDYIYY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLFIQMNSLKAEDTAVYYCARDLVTSMVAFDYWGQGTLTVSS;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 7 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 85):

SYELTQPPSVSPGQAARITCSGDALPQKYVFWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPER
FSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDRSGNHRVFGGGTRLTVL.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2.9D10, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 2.9D10 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 12 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 86):

10 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGGEQYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDWNYGYYDMWDVGQGTTVTVSS;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 17 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 87):

15 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNYLAWFQQKPGQAPRLLIFGTSSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSIFTFGPGTKVDIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2.14H9, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 2.14H9 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 22 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 88):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGEAFDYWGQGTLVTVS
S;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

25 SEQ ID No: 27 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 89):

EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSLPWTFGQGTEVEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2.20A8, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 2.20A8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 32 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 90):

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAIRGGGSTYY
ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLHYDSSGYLDYWGQGTLVTVS
S;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

ES 2 981 730 T3

SEQ ID No: 37 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 91):

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGIRSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAISRLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPLTFGGTKEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 3.15G8, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 3.15G8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 42 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 92):

10 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGGEKYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLFLQMNSLRRAEDTAVYYCARVQLYSDYFDYWGQGTLVTVSS;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 47 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 93):

15 DIQMTQSPSSVSASVGDRVITCRASQGISSWLAWYQQKSGKAPKLLIYAASGLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDLATYYCQQSHSLPPTFGQGTLKEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 3.18G1, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 3.18G1 o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 52 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 94):

EVQLLESGGDLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGFTFS
ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMNSLRVEDSAVYSCAKVLVGFNNGCWDYWGQGTLVTVS
S;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

25 SEQ ID No: 57 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 95):

SYVLTQPPSVSVPQQTARITCGGNNIGSKSVHWFQQKPGQAPVLVYDDSDRPSGI PER
FSGNSNGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSNDHVVFGGTKEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2.7 MOPT, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 2.7 MOPT o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 62 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 96):

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSTYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSGDYIYY
ADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRRAEDTAVYYCARDLVTSMVAFDYWGQGTLVTVSS;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 67 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 97):

SYELTQPPSVSPGQTARITCSGDALPQKYVFWYQQKSGQAPVLVIYEDSKRPSGIPER
FSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDRSGNHRVFGGGTKLTVL.

En una realización, la fracción objetivo comprende el anticuerpo anti-PD-L1 2.14H9OPT, o fragmentos del mismo, según se divulga en los documentos WO 2011/066389, US8,779,108y US2014/0356353. En realizaciones ilustrativas, 2.14H9OPT o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 72 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 98):

10 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYY
VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGWFGELEAFDYWGQGTLVTVS
S;

y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 77 del documento WO 2011/066389 (SEQ ID NO: 99):

15 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQRVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASSRATGIP
DRFGSGSGSGTDFLTISRLPEDFAVYYCQQYGSILPWTFGQGTKVEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en el documento WO2016/061142. En realizaciones ilustrativas, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 18, 30, 38, 46, 50, 54, 62, 70 y 78 del WO2016/061142:

SEQ ID No: 18 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 100):

25 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSYWMYWVRQATGQGLEWMGRIDPNMSGSTKY
NEFKKNRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

SEQ ID No: 30 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 101):

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWVRQATGQGLEWMGRIDPNMSGSTKY
NEFKKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

30 SEQ ID No: 38 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 102):

EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMYWVRQAPGQGLEWMGRIDPNMSGSTKY
NEFKKNRVTISVDTSKNQFSKLSSVTAADTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

35 SEQ ID No: 46 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 103):

EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTSYWMYWIRQSPSRGLEWLGRIDPNMSGSTKY
NEFKKNRLTISKDTSKNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

SEQ ID No: 50 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 104):

40 EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFTSYWMYWIRQPPGKGLEWIGRIDPNMSGSTKY
NEFKKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

SEQ ID No: 54 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 105):

45 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYFTSYWMYWIRQSPSRGLEWLGRIDPNMSGSTKY
NEFKKNRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

SEQ ID No: 62 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 106):

EVQLVQSGAEVKPGESLRISCKGSGYFTSYWMWVRQARGQRLEWIGRIDPNSGSTKY
NEFKKNRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDTATYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

5 SEQ ID No: 70 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 107):

QITLKGSGPTLVKPTQTLTCTFSGYFTSYWMWVRQAPGKGLEWVSRIDPNSGSTKY
NEFKKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

10 SEQ ID No: 78 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 108):

EVQLVQSGAEVKPGATVKISCKVSGYFTSYWMWVRQARGQRLEWIGRIDPNSGSTKY
NEFKKNRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDYRKGLYAMDYWGQGTTVTVSS;

y/o una cadena ligera que comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 22, 26, 34, 42, 58, 66, 74, 82 y 86 del WO2016/061142:

15 SEQ ID No: 22 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 109):

DIVMTQTPLSLPVTPEGAPASICKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGIPA
RFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

20 SEQ ID No: 26 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 110):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

25 SEQ ID No: 34 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 111):

EIVLTQSPDFQSVPKEKVITCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPD
RFSGSGSGTDFTLKIISRAEDVGVYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

SEQ ID No: 42 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 112):

EIVLTQSPDFQSVPKEKVITCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK.

30 SEQ ID No: 58 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 113):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGIPP
RFSGSGYGTDFTLTINNIESEDAAYYFCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

35 SEQ ID No: 66 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 114):

DVVMQSPSLPVTLGQPASICKASQDVGTAVAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

40 SEQ ID No: 74 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 115):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

45 SEQ ID No: 82 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 116):

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITCKASQDVGTAVAWYLQKPGQSPQLLIYWASTRHTGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLEADAATYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK;

SEQ ID No: 86 del documento WO2016/061142 (SEQ ID NO: 117):

EIVLTQSPDFQSVPKEKVITCKASQDVGTAVAWYQQKPGQAPRLLIYWASTRHTGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISLQPDFATYYCQQYNSYPLTFGQGTTKVEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en el documento WO2016/022630. En realizaciones ilustrativas, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno

ES 2 981 730 T3

del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38, 42 y 46 del WO2016/022630:

5 SEQ ID No: 2 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 118):

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCHAASGFIFRSYGMSWVRQTPPEKRLEWVASISSGGSTYYP
DSVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLRSEDTAMYDCARGYDSGFAYWGQTLTVSE;

10 SEQ ID No: 6 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 119):

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCHAASGFTFRSYGMSWVRQTPPEKRLEWVASISSGGTTYYP
DSVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLRSEDTAMYCAKGYDSGFAYWGQTLVIVSA;

15 SEQ ID No: 10 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 120):

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSICTVSGFSLTTYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIVRGVTTDYN
AAFMSRLTITKDNSKSQVFFKMNSLQANDTAIYYCARLGFYAMDYWGQGTSVTVSS;

20 SEQ ID No: 14 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 121):

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSICTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIVSGVTDYN
AAFISRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQANDTAIYYCARLGFYAMDYWGQGTSVTVSS;

25 SEQ ID No: 18 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 122):

EVKLFESGGGLVQPGGSLKLSHVSCAVASGFDFSTYWMHWVRQAPGQGLEWIGQINPDSTTINY
APSLKDRFTISRDNAKNTLFLQMSKVRSEDTALYYCAKPGDYGYDFDCWGQGTTLTVSS;

30 SEQ ID No: 22 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 123):

EVQLQESGPVLVKPSQTLSLTCSVTGDSITSGYWNWIRKFPGNKEYMGIISYSGSTYYN
PSLKSRISETRDTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYCARSLLWFSTGFAYWGQGTLTVSA;

35 SEQ ID No: 26 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 124):

QVQLKQSGPGLVQPSQSLSICTVSGFSLTSYGVHWVRQSPGKGLEWLGVIVSGGITDYN
AAFKSRLSISKDNSKSQVFFKMNSLQANDTAIYFCARLGFYAMDYWGQGTSVTVSS;

40 SEQ ID No: 30 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 125):

EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCHAASGFTFRSYGMSWARQIPEKRLEWVASISSGGTTYL
GSVQGRFTISRDNARNILYLQMSSLRSEDTAMYYCARGYDAGFAYWGQGTLVSVSE;

45 SEQ ID No: 34 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 126):

EVQLQESGPVLVKPSQTLSLTCSVTGDSITSGYWTWIRKFPGNKEYMGIISYTGSTYYN
PSLKSRISETRDTKSQYYLQLNSVTTEDTATYYCARQRDWLFAYWGQGTLTVSA;

50 SEQ ID No: 38 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 127):

EEKLVESGGGLVKPGGSLKLSCHAASGFSFSSYGMSWVRQTPPEKRLEWVASISSGGSIYYP
DSVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLRSEDTAMYYCARGYDAGFAFWGQGTLVTASA;

55 SEQ ID No: 42 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 128):

QITLKESGPVLVKPTQTLTCTVSGFSLSTYGVHWIRQPPGKALEWLGVIVRGVTTDYN
AAFMSRLTITKDNSKNQVVLMNNMDPVDTATYYCARLGFYAMDYWGQGTLVTVSS;

60 SEQ ID No: 46 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 129):

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFIFRSYGMSWVRQAPGKGLEWVASISSGGSTYYP
DSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYDCARGYDSGFAYWGQGTLVTVSS;

y/o una cadena ligera que comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44 y 48 del WO2016/022630:

SEQ ID No: 4 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 130):

5 DIVLTQSPASLAVALGQRATISCRASQSVSTSSSFMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 8 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 131):

10 DIVLTQSPASLAVALGQRATISCRASQSVSTSSSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 12 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 132):

15 SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGQSPKLLIYYAANRYTGVPD
RFTGSGYGTDFFTISIVQAEDLAVYFCQQDYTSPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 16 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 133):

20 SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTTITCKASQSVSNDVGWYQQKPGQSPKLLIYYASNRYSGVPD
RFTGSGYGTDFFTISTVQAEDLAVYFCQQDYTSPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 20 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 134):

25 DVLMTQTPLYLPVSLGDQASISCRSSQIIIVHSNANTYLEWFLQKPGQSPKLLIYKVSNRF
SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 24 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 135):

30 QIVLTQSPAAMSASPGEKVTLTCSASSSVSSSYLYWNQQKPGSSPKVWIYNTSNLASGVP
ARFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAASYFCHQWRSYPPTLGAGTKLELK;

SEQ ID No: 28 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 136):

35 QIVLTQSPAAMSASPGEKVTMTCANSVSYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPAR
FSGSGSGTSYSLTISSMGAEDAATYYCQQWSSNPWTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 32 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 137):

40 DIVLTQSPASLAVALGQRATISCRASQSVSTSSSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQNSWEIPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 36 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 138):

45 DIVMTQTPSSLAVSLGEKVTMSCKSSQSLLYSSNQNSIAWYQQKPGQSPKLLIYWasNR
ESGPDRFTGSSSGTDFTLTISSVKAEDLAVYCYQQYYSPLTFGAGTKLELK;

SEQ ID No: 40 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 139):

45 DIVLTQSPASLAVALGQRATISCRASQSVSTSSSYVHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDTATYYCQHSWEIPYTFGGGTKLEIK;

SEQ ID No: 44 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 140):

50 DIVMTQSPSSLASVGDRVTTITCKASQSVSNDVAWYQQKPGKAPKLLIYYAANRYTGVPD
RFTGSGYGTDFFTISISSLQPEDIATYFCQQDYTSPYTFGQGKLEIK;

SEQ ID No: 48 del documento WO2016/022630 (SEQ ID NO: 141):

50 DIVLTQSPASLAVALGQRATITCRASQSVSTSSSFMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLES
GVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYCQHSWEIPYTFGQGKLEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en el documento WO2015/112900. En realizaciones ilustrativas, el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno

del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente documento comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 38, 50, 82 y 86 del WO 2015/112900:

5 SEQ ID No: 38 del documento WO2015/112900 (SEQ ID NO: 142):

EVQLVQSGAEVKPGESLRISCKSGYFTTYWMHWVRQATGQGLEWMGNIYPGTGGSNF
DEFKNRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS;

10 SEQ ID No: 50 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 143):

EVQLVQSGAEVKPGESLRISCKSGYFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNF
DEFKNRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS;

15 SEQ ID No: 82 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 144):

QVQLVQSGAEVKPGASVKVSCKASGYFTTYWMHWIRQSPSRGLEWLGNIYPGTGGSNF
DEFKNRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS;

20 SEQ ID No: 86 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 145):

EVQLVQSGAEVKPGESLRISCKSGYFTTYWMHWVRQAPGQGLEWMGNIYPGTGGSNF
DEFKNRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRWTGTGAYWGQGTTVTVSS;

25 y/o una cadena ligera que comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID Nos: 42, 46, 54, 58, 62, 66, 70, 74 y 78 del documento WO 2015/112900:

SEQ ID No: 42 del documento WO2015/112900 (SEQ ID NO: 146):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGQAPRLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

30 SEQ ID No: 46 del documento WO 2015/112900(SEQ ID NO: 147):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGQAPRLLIYWASTR
ESGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIESEDAAYYFCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

35 SEQ ID No: 54 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 148):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGKAPKLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDiatYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

40 SEQ ID No: 58 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 149):

DIVMTQTPLSLPVTPGEPASICKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGQAPRLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLAEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

45 SEQ ID No: 62 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 150):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGKAPKLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLAEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

50 SEQ ID No: 66 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 151):

EIVLTQSPDFQSVPKEKVTITCKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGQAPRLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLAEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

SEQ ID No: 70 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 152):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCKSSQSLDSGNQKNFLTWTYQQKPGQAPRLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLAEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

SEQ ID No: 74 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 153):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVТИТCKSSQSLLSGNQKNFLTЫLQKPGQSPQLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK;

SEQ ID No: 78 del documento WO 2015/112900 (SEQ ID NO: 154):

5

DVVMTQSPSLPVTЛQGPASISCKSSQSLLSGNQKNFLTЫLQKPGKAPKLLIYWASTR
ESGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYYCQNDYSYPYTFGQGTKVEIK.

En una realización, la fracción objetivo comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 divulgados en
10 los documentos WO 2010/077634 y US 8,217,149. En realizaciones ilustrativas, el anticuerpo anti-PD-L1 o un
fragmento de unión a antígeno del mismo para su uso en los procedimientos proporcionados en el presente
documento comprende una región de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 20 del documento WO 2010/077634 (SEQ ID NO: 155):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDSWIHWVRQAPGKGLEWVAWISPYGGSTYY
ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRHWPGFDYWGQGTЛTVSA;

15 y/o una región variable de cadena ligera que comprenda la secuencia de aminoácidos de:

SEQ ID No: 21 del documento WO 2010/077634 (SEQ ID NO: 156):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVТИTCRASQDVSTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFЛYSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQOYLYHPATFGQGTЛKVEIKR.

En una realización, la fracción objetivo comprende uno cualquiera de los anticuerpos anti-PD-L1 obtenibles del
20 hibridoma accesible bajo los números de depósito CNCM I-4122, CNCM I-4080 y CNCM I-4081 según se
divulga en el documento US 20120039906.

En una realización, la fracción objetivo comprende un VHH dirigido contra PD-L1 como se divulga, por ejemplo,
25 en los documentos US 8,907,065 y WO 2008/071447. En realizaciones ilustrativas, los VHHS contra PD-L1
comprenden SEQ ID NOS: 394-399 del documento US 8,907,065:

SEQ ID No: 394 del documento US 8,907,065 (SEQ ID NO: 157):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREWASS
ISSSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVFLQMNSLKPEDTAVYSCAASQ
APITIATMMKPFYDYWGQGTQVTVSS;

30

SEQ ID No: 395 del documento US 8,907,065 (SEQ ID NO: 158):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREWVSC
ISSSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCAARH
GGPLTVЕYFFDYWGQGTQVTVSS;

35

SEQ ID No: 396 del documento US 8,907,065 (SEQ ID NO: 159):

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDYYAIGWFRQAPGKAREGVSC
ISGGDNSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCATGG
WKYCSGYDPEYIYWGQGTQVTVSS;

40

SEQ ID No: 397 del documento US 8,907,065 (SEQ ID NO: 160):

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSQYDVGWYRQAPGKQRELVA
FSSSGRТИPDSVKGRFTFSRDNTKNTVYLQMTSLKPEDTAVYYCKIDW
YLNSYWGQGTQVTVSS;

SEQ ID No: 398 del documento US 8,907,065 (SEQ ID NO: 161):

EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGVDASNSAMGWYRQAPGKQREWVAR
ITGGGLIAYTDSVKGRFTISRDNAKSTVYLQMNSLEPEDTAVYYCNTINS
RDGWGQGTQVTVSS;

SEQ ID No: 399 del documento US 8,907,065 (SEQ ID NO: 162):

EVQLVESGGGLVQAGGSLTISCAASGITFSDSIVSWYRRARGKQREWVAG
ISNGGTTKYAESVLGRFTISRDNAKNNVYLQMNGILNPEDTAVYLCKVRQY
WGQGTQTVSS.

5 En diversas realizaciones, las fracciones dirigidas de la invención pueden comprender una secuencia que se dirige a PD-L1 que es al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 61%, al menos aproximadamente 62%, al menos aproximadamente 63%, al menos aproximadamente 64%, al menos aproximadamente 65%, al menos aproximadamente 66%, al menos aproximadamente 67%, al menos aproximadamente 68%, al menos aproximadamente 69%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 71%, al menos aproximadamente 72%, al menos aproximadamente 73%, al menos aproximadamente 74%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 76%, al menos aproximadamente 77%, al menos aproximadamente 78%, al menos aproximadamente 79%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 81%, al menos aproximadamente 82%, al menos aproximadamente 83%, al menos aproximadamente 84%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 86%, al menos aproximadamente 87%, al menos aproximadamente 88%, al menos aproximadamente 89%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, al menos aproximadamente 99%, o 100% idéntico a cualquiera de las secuencias divulgadas en el presente documento (*por ejemplo*, aproximadamente 60%, o aproximadamente 61%, o aproximadamente 62%, o aproximadamente 63%, o aproximadamente 64%, o aproximadamente 65%, o aproximadamente 66%, o aproximadamente 67%, o aproximadamente 68%, o aproximadamente 69%, o aproximadamente 70%, o aproximadamente 71%, o aproximadamente 72%, o aproximadamente 73%, o aproximadamente 74%, o aproximadamente 75%, o aproximadamente 76%, o aproximadamente 77%, o aproximadamente 78%, o aproximadamente 79%, o aproximadamente 80%, o aproximadamente 81%, o aproximadamente 82%, o aproximadamente 83%, o aproximadamente 84%, o aproximadamente 85%, o aproximadamente 86%, o aproximadamente 87%, o aproximadamente 88%, o aproximadamente 89%, o aproximadamente 90%, o aproximadamente 91%, o aproximadamente 92%, o aproximadamente 93%, o aproximadamente 94%, o aproximadamente 95%, o aproximadamente 96%, o aproximadamente 97%, o aproximadamente 98%, o aproximadamente 99% o aproximadamente 100% identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias divulgadas en el presente documento).

35 En diversas realizaciones, las moléculas objetivo de la invención pueden comprender cualquier combinación de secuencias de cadena pesada, cadena ligera, región variable de cadena pesada, región variable de cadena ligera, región determinante de complementariedad (CDR) y región marco que se dirigen a PD-L1 como se divulga en el presente documento.

40 Anticuerpos adicionales, derivados de anticuerpos o formatos que se unen selectivamente o se dirigen a PD-L1 se divultan en los documentos WO 2011/066389, US 2008/0025980, US 2013/0034559, US 8,779,108, US 2014/0356353, US 8,609,089, US 2010/028330, US 2012/0114649, WO 2010/027827, WO 2011/066342, US 8,907,065, WO 2016/062722, WO 2009/101611, WO 2010/027827, WO 2011/066342, WO 2007/005874, WO 2001/014556, US 2011/0271358, WO 2010/036959, WO 2010/077634, US 8,217,149, US 2012/0039906, WO 2012/145493, US 2011/0318373, Patente de EE.UU. No. 8,779,108, US 2014/0044738, WO 2009/089149, WO 2007/00587, WO 2016/02263, WO 2010/077634, y WO 2015/112900..

Agentes de señalización modificados

50 La presente invención proporciona una proteína quimérica que incluye un agente de señalización, que es interferón alfa 2 humano modificado (IFN- α 2) que tiene al menos 98% de identidad con una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 179 o 180 y con una o más mutaciones en las posiciones 144-154. En diversas realizaciones, el agente de señalización se modifica para tener una actividad reducida. En algunas realizaciones, el agente de señalización se modifica para tener afinidad reducida por uno o más de sus receptores, lo que permite atenuar la actividad y/o evitar la señalización inespecífica o el secuestro indeseable de la proteína quimérica. La actividad del agente de señalización modificado se restablece en el contexto de la proteína quimérica que comprende además una fracción objetivo que se dirige a tipos celulares específicos. En particular, la actividad del agente de señalización modificado se restablece hacia las células objetivo, pero no hacia las células no objetivo. Por consiguiente, en diversas realizaciones, las proteínas químéricas de la invención ofrecen ventajas terapéuticas tales como una mayor especificidad y eficacia en las células objetivo, así como efectos secundarios reducidos, incluyendo una menor toxicidad sistémica.

Las mutaciones permiten que el agente de señalización modificado tenga una o más actividades atenuadas, tal como una o más afinidades de unión reducidas, una actividad endógena reducida y una bioactividad específica reducida en relación con la forma no modificada o no mutada, *es decir*, la forma de tipo silvestre del

agente de señalización (*por ejemplo*, comparando el mismo agente de señalización en una forma de tipo silvestre frente a una forma modificada (*por ejemplo*, mutante)). En algunas realizaciones, las mutaciones que atenúan o reducen la unión o la afinidad incluyen aquellas mutaciones que reducen o eliminan sustancialmente la unión o la actividad. En algunas realizaciones, las mutaciones que atenúan o reducen la unión o la afinidad son diferentes de las mutaciones que reducen o eliminan sustancialmente la unión o la actividad. En consecuencia, en diversas realizaciones, las mutaciones permiten que el agente de señalización sea más seguro, por ejemplo, que tenga una toxicidad sistémica reducida, efectos secundarios reducidos y efectos fuera del objetivo reducidos en relación con el agente de señalización no mutado, es decir, de tipo silvestre (*por ejemplo*, comparando el mismo agente de señalización en una forma de tipo silvestre frente a una forma modificada (*por ejemplo*, mutante)). Como se describe en el presente documento, el agente de señalización puede tener una seguridad mejorada debido a una o más modificaciones, *por ejemplo*, mutaciones. En diversas realizaciones, seguridad mejorada significa que la presente proteína químérica proporciona menor toxicidad (*por ejemplo*, toxicidad sistémica y/o toxicidad asociada a tejidos u órganos); y/o efectos secundarios disminuidos o sustancialmente eliminados; y/o tolerabilidad aumentada, acontecimientos adversos disminuidos o sustancialmente eliminados; y/o efectos fuera de objetivo reducidos o sustancialmente eliminados; y/o una ventana terapéutica aumentada.

El agente de señalización se modifica para tener una o más mutaciones que reducen su afinidad de unión o actividad para uno o más de sus receptores. En algunas realizaciones, el agente de señalización se modifica para tener una o más mutaciones que reducen sustancialmente o eliminan la afinidad de unión o la actividad para los receptores. La actividad proporcionada por el agente señalizador de tipo silvestre es el agonismo en el receptor (*por ejemplo*, la activación de un efecto celular en un lugar de la terapia). Por ejemplo, el agente de señalización de tipo silvestre puede activar su receptor. Las mutaciones hacen que el agente de señalización modificado tenga una actividad activadora reducida o anulada en el receptor. Por ejemplo, las mutaciones pueden dar lugar a que el agente de señalización modificado proporcione una señal de activación reducida a una célula objetivo o la señal de activación podría ser ablacionada. En diversas realizaciones, el agente de señalización es antagonista debido a una o más mutaciones, *por ejemplo*, un agente de señalización agonista se convierte en un agente de señalización antagonista (*por ejemplo*, como se describe en el documento WO 2015/007520) y, dicho agente de señalización convertido, opcionalmente, también porta una o más mutaciones que reducen su afinidad o actividad de unión para uno o más de sus receptores o que reducen o abaten sustancialmente la afinidad o actividad de unión para uno o más de sus receptores. La afinidad o actividad reducida en el receptor se restablece mediante la unión con la molécula orientada.

En diversas realizaciones, las proteínas químéricas de la presente invención reducen los efectos fuera del objetivo porque sus agentes de señalización tienen mutaciones que debilitan o eliminan la afinidad de unión o la actividad en un receptor. En diversas realizaciones, esta reducción de los efectos secundarios se observa en relación con, por ejemplo, los agentes de señalización de tipo silvestre. El agente señalizador es activo en las células objetivo porque la fracción objetivo compensa la falta/insuficiencia de unión (*por ejemplo*, sin limitación y/o avidez) necesaria para una activación sustancial. En diversas realizaciones, el agente de señalización modificado es sustancialmente inactivo *en ruta* hacia el lugar de la actividad terapéutica y tiene su efecto sustancialmente en tipos celulares específicamente orientados, lo que reduce en gran medida los efectos secundarios no deseados.

En algunas realizaciones, el agente de señalización puede incluir una o más mutaciones que atenúan o reducen la unión o afinidad por un receptor (es decir, un receptor terapéutico) y una o más mutaciones que reducen sustancialmente o abaten la unión o actividad en un segundo receptor. En tales realizaciones, estas mutaciones pueden estar en la misma posición o en posiciones diferentes (es decir, la misma mutación o múltiples mutaciones). En algunas realizaciones, la(s) mutación(es) que reduce(n) la unión y/o la actividad en un receptor es(son) diferente(s) de la(s) mutación(es) que reduce(n) o anula(n) sustancialmente en otro receptor. En algunas realizaciones, la(s) mutación(es) que reduce(n) la unión y/o la actividad en un receptor es(son) la(s) misma(s) que la(s) mutación(es) que reduce(n) o anula(n) sustancialmente en otro receptor. En algunas realizaciones, las presentes proteínas químéricas tienen un agente de señalización modificado que tiene tanto mutaciones que atenúan la unión y/o la actividad en un receptor terapéutico y, por lo tanto, permiten un efecto terapéutico más controlado y dirigido (*por ejemplo*, en relación con el agente de señalización de tipo silvestre) como mutaciones que reducen sustancialmente o eliminan la unión y/o la actividad en otro receptor y, por lo tanto, reducen los efectos secundarios (*por ejemplo*, en relación con el agente de señalización de tipo silvestre).

La reducción o ablación sustancial de la unión o la actividad se puede restablecer con una fracción objetivo. En diversas realizaciones, la reducción sustancial o la ablación de la unión o la actividad de un segundo receptor también puede prevenir los efectos nocivos mediados por el otro receptor. Alternativamente, o, además, la reducción sustancial o la ablación de la unión o la actividad en el otro receptor hace que mejore el efecto terapéutico, ya que se reduce o elimina el secuestro de las proteínas químéricas terapéuticas lejos del lugar de la acción terapéutica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, esto obvia la necesidad de altas dosis de las presentes proteínas químéricas que compensan la pérdida en el otro receptor. Esta posibilidad de reducir aún más la dosis reduce la probabilidad de efectos secundarios.

En diversas realizaciones, el agente de señalización modificado comprende una o más mutaciones que hacen que el agente de señalización tenga afinidad reducida, sustancialmente reducida o abortada, *por ejemplo*, unión (*por ejemplo*, K_D) y/o activación (por ejemplo, cuando el agente de señalización modificado es un agonista de su receptor, medible como, por ejemplo, K_A y/o EC_{50}) y/o inhibición (por ejemplo, cuando el agente de señalización modificado es un antagonista de su receptor, medible como, por ejemplo, K_I y/o IC_{50}), para uno o más de sus receptores. En diversas realizaciones, la afinidad reducida en el receptor del agente de señalización permite la atenuación de la actividad (incluyendo el agonismo o el antagonismo). En tales realizaciones, el agente de señalización modificado tiene aproximadamente 1%, o aproximadamente 3%, aproximadamente 5%, 10% aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, o aproximadamente 10%-20%, aproximadamente 20%-40%, aproximadamente 50%, 15% aproximadamente 40%-60%, aproximadamente 60%-80%, aproximadamente 80%-100% de la afinidad por el receptor en relación con el agente de señalización de tipo silvestre. En algunas realizaciones, la afinidad de unión es al menos aproximadamente 2 veces menor, aproximadamente 3 veces menor, aproximadamente 4 veces menor, aproximadamente 5 veces menor, aproximadamente 6 veces menor, aproximadamente 7 veces menor, aproximadamente 8 veces menor, aproximadamente 9 veces menor, al menos aproximadamente 10 veces menor, al menos aproximadamente 15 veces menor, al menos aproximadamente 20 veces menor, al menos aproximadamente 25 veces menor, al menos aproximadamente 30 veces menor, al menos aproximadamente 35 veces menor, al menos aproximadamente 40 veces menor, al menos aproximadamente 45 veces menor, al menos aproximadamente 50 veces menor, al menos aproximadamente 100 veces menor, al menos aproximadamente 150 veces menor, o al menos 10-50 veces menor, al menos aproximadamente 50-100 veces menor, al menos aproximadamente 100-150 veces menor, al menos aproximadamente 150-200 veces menor, o más de 200 veces menor en relación con el agente señalizador de tipo silvestre.

En las realizaciones en las que la proteína químérica tiene mutaciones que reducen la unión a un receptor y reducen o anulan sustancialmente la unión a un segundo receptor, la atenuación o reducción de la afinidad de unión de un agente de señalización modificado para un receptor es menor que la reducción o anulación sustancial de la afinidad para el otro receptor. En algunas realizaciones, la atenuación o reducción de la afinidad de unión de un agente de señalización modificado por un receptor es inferior a la reducción o ablación sustancial de la afinidad por el otro receptor en aproximadamente 1%, o aproximadamente 3%, aproximadamente 5%, 10% aproximadamente 10%, aproximadamente 15%, aproximadamente 20%, aproximadamente 25%, 30% aproximadamente 30%, aproximadamente 35%, aproximadamente 40%, aproximadamente 45%, aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 65%, aproximadamente 70%, aproximadamente 75%, aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90% o aproximadamente 95%. En diversas realizaciones, la reducción o ablación sustancial se refiere a una mayor reducción de la afinidad y/o actividad de unión que la atenuación o reducción.

En diversas realizaciones, el agente de señalización modificado comprende una o más mutaciones que reducen la actividad endógena del agente de señalización a aproximadamente 75%, o aproximadamente 70%, o aproximadamente 60%, o aproximadamente 50%, o aproximadamente 40%, o aproximadamente 30%, o aproximadamente 25%, o aproximadamente 20%, o aproximadamente 10%, o aproximadamente 5%, o aproximadamente 3%, o aproximadamente 1%, *por ejemplo*, en relación con el agente de señalización de tipo silvestre

[0063] En algunas realizaciones, el agente de señalización modificado comprende una o más mutaciones que hacen que el agente de señalización tenga una afinidad reducida por su receptor que es inferior a la afinidad de unión de la fracción objetivo por su receptor. En algunas realizaciones, este diferencial de afinidad de unión es entre el agente señalizador/receptor y la fracción objetivo/receptor en la misma célula. En algunas realizaciones, este diferencial de afinidad de unión permite que el agente de señalización, *por ejemplo*, el agente de señalización mutado tenga efectos localizados, en el objetivo y minimice los efectos fuera del objetivo que subyacen a los efectos secundarios que se observan con el agente de señalización de tipo salvaje. En algunas realizaciones, esta afinidad de unión es al menos aproximadamente 2 veces, o al menos aproximadamente 5 veces, o al menos aproximadamente 10 veces, o al menos aproximadamente 15 veces menor, o al menos aproximadamente 25 veces, o al menos aproximadamente 50 veces menor, o al menos aproximadamente 100 veces, o al menos aproximadamente 150 veces menor.

La actividad de unión al receptor puede medirse utilizando procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la afinidad y/o la actividad de unión pueden evaluarse mediante el análisis del diagrama de Scatchard y el ajuste informático de los datos de unión (*por ejemplo*, Scatchard, 1949) o mediante espectroscopía de interferencia reflectométrica en condiciones de flujo continuo, como describen Brecht *et al.* (1993).

El agente de señalización modificado comprende una secuencia de aminoácidos que tiene una o más

mutaciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la una o más mutaciones de aminoácidos pueden seleccionarse independientemente entre sustituciones, inserciones, delecciones y truncamientos.

5 En algunas realizaciones, las mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos, y pueden incluir sustituciones conservativas y/o no conservativas.

10 Las "sustituciones conservativas" pueden realizarse, por ejemplo, sobre la base de la similitud en polaridad, carga, tamaño, solubilidad, hidrofobicidad, hidrofilicidad y/o la naturaleza anfipática de los residuos de aminoácidos implicados. Los 20 aminoácidos naturales pueden agruparse en los siguientes seis grupos de aminoácidos estándar: (1) hidrófobo: Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) hidrófilo neutro: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) ácido: Asp, Glu; (4) básico: His, Lys, Arg; (5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro; y (6) aromático: Trp, Tyr, Phe.

15 Tal como se utiliza en el presente documento, las "sustituciones conservativas" se definen como intercambios de un aminoácido por otro aminoácido enumerado dentro del mismo grupo de los seis grupos de aminoácidos estándar mostrados anteriormente. Por ejemplo, el intercambio de Asp por Glu retiene una carga negativa en el polipéptido así modificado. Además, la glicina y la prolina pueden sustituirse entre sí en función de su capacidad para interrumpir las α-hélices.

20 Tal como se utiliza en el presente documento, las "sustituciones no conservativas" se definen como intercambios de un aminoácido por otro aminoácido incluido en un grupo diferente de los seis grupos de aminoácidos estándar (1) a (6) mostrados anteriormente.

25 En diversas realizaciones, las sustituciones también pueden incluir aminoácidos no clásicos (*por ejemplo*, selenocisteína, pirrolisina, *N-formilmethionina*β-alanina, GABA y ácido δ-aminolevúlico, ácido 4-aminobenzoico (PABA), D-isómeros de los aminoácidos comunes, ácido 2,4-diaminobutírico, ácido α-amino isobutírico, ácido 4-aminobutírico, Abu, ácido 2-amino butírico, γ-Abu, ε-Ahx, ácido 6-amino hexanoico, Aib, ácido 2-amino isobutírico, ácido 3-amino propiónico, ornitina, norleucina, norvalina, hidroxiprolina, sarcosma, 30 citrulina, homocitrulina, ácido cisteico, t-butilglicina, t-butilalanina, fenilglicina, ciclohexilanina, β-alanina, fluoroaminoácidos, aminoácidos de diseño como los β-metilaminoácidos, C α-metilaminoácidos, N α-metilaminoácidos, y análogos de aminoácidos en general).

35 Como se describe en el presente documento, los agentes de señalización modificados llevan mutaciones que afectan a la afinidad y/o actividad en uno o más receptores. En diversas realizaciones, hay una afinidad y/o actividad reducida en un receptor terapéutico, *por ejemplo*, un receptor a través del cual se media un efecto terapéutico deseado (*por ejemplo*, agonismo o antagonismo). En diversas realizaciones, los agentes de señalización modificados presentan mutaciones que reducen sustancialmente o eliminan la afinidad y/o la actividad en un receptor, *por ejemplo*, un receptor a través del cual no se produce un efecto terapéutico deseado (por ejemplo, como resultado de la promiscuidad de la unión). Los receptores de cualquier agente de señalización modificado, *por ejemplo*, una de las citocinas, factores de crecimiento y hormonas descritos en el 40 presente documento, son conocidos en la técnica.

Las mutaciones ilustrativas que proporcionan una afinidad y/o actividad reducida (*por ejemplo*, agonística) en un receptor se encuentran en el documento WO 2013/107791.

45 Las formas mutantes de interferón α, tales como IFN-α2, son conocidas por el experto en la técnica. En una realización ilustrativa, el agente de señalización modificado es la forma alélica IFN-α2a que tiene la secuencia de aminoácidos de:

IFN-α2a (SEQ ID NO: 179):

50 CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEFGNQFQKAETIPVLH
EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELQQQLNDLEACVIQGVGVTEPLMKED
SILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVAEIMRSFSLSTNLQESLRSK.

En una realización ilustrativa, el agente de señalización modificado es la forma alélica IFN-α2b que tiene la secuencia de aminoácidos de (que difiere de IFN-α2a en la posición de aminoácido 23):

IFN- α 2b (SEQ ID NO: 180):

CDLPQTHSLGSRRTLMLAQMRRIISLFCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLH
 EMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKED
 SILAVRKYFQRITLYKEKKYSPCAWEVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSK.

5 Dicho mutante de IFN- α 2 (IFN- α 2a o IFN- α 2b) está mutado en uno o más aminoácidos en las posiciones 144-154, tales como las posiciones de aminoácidos 148, 149 y/o 153. En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 comprende una o más mutaciones seleccionadas de L153A, R149A y M148A. Tales mutantes se describen, por ejemplo, en el documento WO2013/107791 y Piehler et al., (2000) J. Biol. Chem, 275:40425-33.

10 En algunas realizaciones, los mutantes IFN- α 2 tienen afinidad y/o actividad reducida por IFNAR1. En algunas realizaciones, el mutante de IFN- α 2 comprende una o más mutaciones seleccionadas de F64A, N65A, T69A, L80A, Y85A e Y89A, como se describe en el documento WO2010/030671.

15 En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 comprende una o más mutaciones seleccionadas de K133A, R144A, R149A y L153A como se describe en el documento WO2008/124086.

20 En algunas realizaciones, el mutante de IFN- α 2 comprende una mutación en la posición R120. En algunas realizaciones, el mutante de IFN- α 2 comprende una o más mutaciones seleccionadas de R120E y R120E/K121E, como se describe en el documento WO2015/007520 y WO2010/030671. En tales realizaciones, dicho mutante IFN- α 2 antagoniza la actividad IFN- α 2 de tipo silvestre. En tales realizaciones, dicho IFN- α 2 mutante tiene afinidad y/o actividad reducidas para IFNAR1 mientras que se conserva la afinidad y/o actividad de IFNR2.

25 En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 comprende (1) una o más mutaciones seleccionadas de R120E y R120E/K121E, que, sin querer estar limitadas por la teoría, crean un efecto antagonista y (2) una o más mutaciones seleccionadas de K133A, R144A, R149A, y L153A, que, sin querer estar limitadas por la teoría, permiten un efecto atenuado en, por ejemplo, IFNAR2. En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 comprende una mutación R120E y R149A o L153A. En una realización, el mutante IFN- α 2 humano comprende R120E y L153A.

30 En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende una o más mutaciones seleccionadas de, L15A, A19W, R22A, R23A, L26A, F27A, L30A, L30V, K31A, D32A, R33K, R33A, R33Q, H34A, D35A, Q40A, D114R, L117A, R120A, R125A, K134A, R144A, A145G, A145M, M148A, R149A, S152A, L153A, y N156A según se divulga en el documento WO 2013/059885. En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende las mutaciones H57Y, E58N, Q61S, y/o L30A como se divulga en el documento WO 2013/059885.

35 En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende las mutaciones H57Y, E58N, Q61S, y/o R33A como se divulga en el documento WO 2013/059885. En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende las mutaciones H57Y, E58N, Q61S, y/o M148A como se divulga en el documento WO 2013/059885. En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende las mutaciones H57Y, E58N, Q61S, y/o L153A como se divulga en el documento WO 2013/059885. En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende las mutaciones N65A, L80A, Y85A, y/o Y89A como se divulga en el documento WO 2013/059885.

40 En algunas realizaciones, el mutante IFN- α 2 humano comprende las mutaciones N65A, L80A, Y85A, Y89A, y/o D114A según se divulga en el documento WO 2013/059885.

Enlazadores

45 En algunas realizaciones, la presente proteína químérica comprende opcionalmente uno o más enlazadores. En algunas realizaciones, la presente proteína químérica comprende un enlazador que conecta la fracción objetivo y el agente de señalización. En algunas realizaciones, la presente proteína químérica comprende un enlazador dentro del agente señalizador.

50 En algunas realizaciones se proporcionan vectores que codifican las presentes proteínas químéricas enlazadas como una única secuencia de nucleótidos a cualquiera de los enlazadores descritos en el presente documento y pueden utilizarse para preparar dichas proteínas químéricas.

55 En algunas realizaciones, la longitud del enlazador permite la unión eficiente de una fracción objetivo y el agente de señalización a sus receptores. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la longitud del enlazador permite la unión eficiente de una de las moléculas objetivo y el agente señalizador a los receptores de la misma célula, así como la unión eficiente de la otra fracción objetivo a otra célula. En el presente documento se incluyen pares de células a modo de ejemplo.

En algunas realizaciones, la longitud del enlazador es al menos igual a la distancia mínima entre los sitios de unión de una de las moléculas objetivo y el agente de señalización a los receptores de la misma célula. En algunas realizaciones, la longitud del enlazador es al menos dos veces, o tres veces, o cuatro veces, o cinco veces, o diez veces, o veinte veces, o 25 veces, o 50 veces, o cien veces, o más la distancia mínima entre los sitios de unión de una de las fracciones objetivo y el agente señalizador a los receptores de la misma célula.

Como se describe en el presente documento, la longitud del enlazador permite la unión eficiente de una de las fracciones objetivo y el agente de señalización a los receptores de la misma célula, siendo la unión secuencial, por ejemplo, la unión fracción objetivo/receptor precede a la unión agente de señalización/receptor.

En algunas realizaciones, hay dos enlazadores en una única quimera, cada uno de los cuales conecta el agente de señalización a una fracción objetivo. En varias realizaciones, los enlazadores tienen longitudes que permiten la formación de un sitio que tiene una célula de enfermedad y una célula efectora sin impedimentos estéricos que impedirían la modulación de cualquiera de las células.

La invención contempla el uso de una variedad de secuencias enlazadoras. En diversas realizaciones, el enlazador puede derivarse de proteínas multidominio de origen natural o ser enlazadores empíricos como los descritos, por ejemplo, en Chichili et al., (2013), Protein Sci. 22(2):153-167, Chen et al., (2013), Adv Drug Deliv Rev. 65(10):1357-1369. En algunas realizaciones, el enlazador puede diseñarse utilizando bases de datos de diseño de enlazadores y programas informáticos como los descritos en Chen et al., (2013), Adv Drug Deliv Rev. 65(10):1357-1369 y Crasto et al., (2000), Protein Eng. 13(5):309-312. En diversas realizaciones, el enlazador puede ser funcional. Por ejemplo, sin limitación, el enlazador puede funcionar para mejorar el plegamiento y/o la estabilidad, mejorar la expresión, mejorar la farmacocinética, y/o mejorar la bioactividad de la presente proteína químérica.

En algunas realizaciones, el enlazador es un polipéptido. En algunas realizaciones, el enlazador tiene menos de 100 aminoácidos de longitud. Por ejemplo, el enlazador puede tener menos de aproximadamente 100, aproximadamente 95, aproximadamente 90, aproximadamente 85, aproximadamente 80, aproximadamente 75, aproximadamente 70, aproximadamente 65, aproximadamente 60, aproximadamente 55, aproximadamente 50, aproximadamente 45, aproximadamente 40, aproximadamente 35, aproximadamente 30, aproximadamente 25, aproximadamente 20, aproximadamente 19, aproximadamente 18, aproximadamente 17, aproximadamente 16, aproximadamente 15, aproximadamente 14, aproximadamente 13, aproximadamente 12, aproximadamente 11, aproximadamente 10, aproximadamente 9, aproximadamente 8, aproximadamente 7, aproximadamente 6, aproximadamente 5, aproximadamente 4, aproximadamente 3 o aproximadamente 2 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, el enlazador es un polipéptido. En algunas realizaciones, el enlazador tiene una longitud superior a aproximadamente 100 aminoácidos. Por ejemplo, el enlazador puede tener una longitud superior a aproximadamente 100, aproximadamente 95, aproximadamente 90, aproximadamente 85, aproximadamente 80, aproximadamente 75, aproximadamente 70, aproximadamente 65, aproximadamente 60, aproximadamente 55, aproximadamente 50, aproximadamente 45, aproximadamente 40, aproximadamente 35, aproximadamente 30, aproximadamente 25, aproximadamente 20, aproximadamente 19, aproximadamente 18, aproximadamente 17, aproximadamente 16, aproximadamente 15, aproximadamente 14, aproximadamente 13, aproximadamente 12, aproximadamente 11, aproximadamente 10, aproximadamente 9, aproximadamente 8, aproximadamente 7, aproximadamente 6, aproximadamente 5, aproximadamente 4, aproximadamente 3 o aproximadamente 2 aminoácidos. En algunas realizaciones, el enlazador es flexible. En otra realización, el enlazador es rígido.

En algunas realizaciones, un enlazador conecta las dos fracciones objetivo entre sí y este enlazador tiene una longitud corta y un enlazador conecta una fracción objetivo y un agente de señalización, este enlazador es más largo que el enlazador que conecta las dos fracciones objetivo. Por ejemplo, la diferencia en la longitud de aminoácidos entre el enlazador que conecta las dos fracciones objetivo y el enlazador que conecta una fracción objetivo y un agente de señalización puede ser de aproximadamente 100, aproximadamente 95, aproximadamente 90, aproximadamente 85, aproximadamente 80, aproximadamente 75, aproximadamente 70, aproximadamente 65, aproximadamente 60, aproximadamente 55, aproximadamente 50, aproximadamente 45, aproximadamente 40, aproximadamente 35, aproximadamente 30, aproximadamente 25, aproximadamente 20, aproximadamente 19, aproximadamente 18, aproximadamente 17, aproximadamente 16, aproximadamente 15, aproximadamente 14, aproximadamente 13, aproximadamente 12, aproximadamente 11, aproximadamente 10, aproximadamente 9, aproximadamente 8, aproximadamente 7, aproximadamente 6, aproximadamente 5, aproximadamente 4, aproximadamente 3 o aproximadamente 2 aminoácidos.

En diversas realizaciones, el enlazador se compone sustancialmente de residuos de glicina y serina (por ejemplo, aproximadamente 30%, o aproximadamente 40%, o aproximadamente 50%, o aproximadamente 60%, o aproximadamente 70%, o aproximadamente 80%, o aproximadamente 90%, o aproximadamente 95%, o aproximadamente 97% de glicinas y serinas). Por ejemplo, en algunas realizaciones, el enlazador es (Gly_nSer)_n, donde n es de aproximadamente 1 a aproximadamente 8, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8. En una

realización, la secuencia enlazadora es GGSGGGGGGGGGGGG (SEQ ID NO: 190). Otros enlazadores ilustrativos incluyen, entre otros, enlazadores con la secuencia LE, GGGGS (SEQ ID NO: 191), (GGGGS)_n (n=1-4) (SEQ ID NO: 192), (Gly)₈ (SEQ ID NO: 193), (Gly)₉ (SEQ ID NO: 194), (EAAAK)_n (n=1-3) (SEQ ID NO: 195), A(EAAAK)_n (n = 2-5) (SEQ ID NO: 196), AEAAAKEAAAKA (SEQ ID NO: 197), 5 A(EAAAK)₄ALEA(EAAAK)₄A (SEQ ID NO: 198), PAPAP (SEQ ID NO: 199), KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 200), EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO: 201), GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO: 202), y (XP)_n, donde X designa cualquier aminoácido, *por ejemplo*, Ala, Lys o Glu. En diversas realizaciones, el enlazador es GGS.

En algunas realizaciones, el enlazador es una región bisagra de un anticuerpo (*por ejemplo*, de IgG, IgA, IgD e IgE, incluidas las subclases (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, e IgA1 e IgA2)). En diversas realizaciones, el enlazador es una región bisagra de un anticuerpo (*por ejemplo*, de IgG, IgA, IgD e IgE, incluidas las subclases (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, e IgA1 e IgA2)). La región bisagra, que se encuentra en los anticuerpos de clase IgG, IgA, IgD e IgE, actúa como un espaciador flexible, permitiendo que la porción Fab se mueva libremente en el espacio. A diferencia de las regiones constantes, los dominios bisagra son estructuralmente

15 diversos, variando tanto en secuencia como en longitud entre las clases y subclases de inmunoglobulinas. Por ejemplo, la longitud y flexibilidad de la región bisagra varía entre las subclases de IgG. La región bisagra de la IgG1 abarca los aminoácidos 216-231 y, al ser libremente flexible, los fragmentos Fab pueden girar sobre sus ejes de simetría y moverse dentro de una esfera centrada en el primero de los dos puentes disulfuro entre cadenas pesadas. La IgG2 tiene una bisagra más corta que la IgG1, con 12 residuos de aminoácidos y cuatro 20 puentes disulfuro. La región bisagra de la IgG2 carece de un residuo de glicina, es relativamente corta y contiene una doble hélice rígida de poliprolina, estabilizada por puentes disulfuro adicionales entre cadenas pesadas. Estas propiedades restringen la flexibilidad de la molécula IgG2. La IgG3 se diferencia de las otras 25 subclases por su exclusiva región bisagra extendida (aproximadamente cuatro veces más larga que la bisagra de la IgG1), que contiene 62 aminoácidos (incluyendo 21 prolinas y 11 cisteínas), formando una doble hélice de poliprolina inflexible. En la IgG3, los fragmentos Fab están relativamente alejados del fragmento Fc, lo que confiere a la molécula una mayor flexibilidad. La bisagra alargada de la IgG3 también es responsable de su mayor peso molecular en comparación con las otras subclases. La región bisagra de la IgG4 es más corta que la de la IgG1 y su flexibilidad es intermedia entre la de la IgG1 y la de la IgG2. La flexibilidad de las regiones bisagra disminuye en el orden IgG3>IgG1>IgG4>IgG2.

30 De acuerdo con estudios cristalográficos, la región bisagra de la inmunoglobulina puede subdividirse funcionalmente en tres regiones: la región bisagra superior, la región núcleo y la región bisagra inferior. Véase Shin et al., 1992 Immunological Reviews 130:87. La región superior de la bisagra incluye aminoácidos desde el extremo carboxilo de C_{H1} hasta el primer residuo de la bisagra que restringe el movimiento, 35 generalmente el primer residuo de cisteína que forma un enlace disulfuro intercadena entre las dos cadenas pesadas. La longitud de la región superior de la bisagra se correlaciona con la flexibilidad segmentaria del anticuerpo. La región central de bisagra contiene los puentes disulfuro entre cadenas pesadas, y la región inferior de bisagra se une al extremo amino terminal del dominio C_{H2} e incluye residuos en C_{H2}. Id. La región central de bisagra de la IgG1 humana de tipo silvestre contiene la secuencia Cys-Pro-Pro-Cys que, cuando se 40 dimeriza mediante la formación de enlaces disulfuro, da lugar a un octapéptido cíclico que se cree que actúa como pivote, confiriendo así flexibilidad. En diversas realizaciones, el presente enlazador comprende, una, o dos, o tres de la región bisagra superior, la región núcleo, y la región bisagra inferior de cualquier anticuerpo (*por ejemplo*, de IgG, IgA, IgD, e IgE, incluidas las subclases (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4, e IgA1 e IgA2)). La región bisagra también puede contener uno o más sitios de glicosilación, que incluyen una serie de 45 tipos estructuralmente distintos de sitios para la unión de carbohidratos. Por ejemplo, IgA1 contiene cinco sitios de glicosilación dentro de un segmento de 17 aminoácidos de la región bisagra, lo que confiere resistencia del polipéptido de la región bisagra a las proteasas intestinales, considerada una propiedad ventajosa para una inmunoglobulina secretora. En diversas realizaciones, el enlazador de la presente invención comprende uno o más sitios de glicosilación. En diversas realizaciones, el enlazador es un dominio bisagra-CH₂-CH₃ de un 50 anticuerpo IgG4 humano.

Si se desea, la presente proteína químérica puede unirse a una región Fc de anticuerpo, que comprende uno o ambos dominios CH₂ y CH₃, y opcionalmente una región bisagra. Por ejemplo, los vectores que codifican las presentes proteínas químéricas unidas como una única secuencia de nucleótidos a una región Fc pueden utilizarse para preparar dichos polipéptidos.

En algunas realizaciones, el enlazador es un enlazador sintético tal como el PEG.

En diversas realizaciones, el enlazador puede ser funcional. Por ejemplo, sin limitación, el enlazador puede funcionar para mejorar el plegamiento y/o la estabilidad, mejorar la expresión, mejorar la farmacocinética, y/o mejorar la bioactividad de la presente proteína químérica. En otro ejemplo, el enlazador puede funcionar para dirigir la proteína químérica a un tipo o localización celular particular.

En diversas realizaciones, las proteínas químéricas pueden conjugarse y/o fusionarse con otro agente para prolongar la semivida o mejorar de otro modo las propiedades farmacodinámicas y farmacocinéticas. En algunas realizaciones, las proteínas químéricas pueden fusionarse o conjugarse con una o más de PEG, XTEN

(por ejemplo, como rPEG), ácido polisialico (POLYXEN), albúmina (por ejemplo, albúmina sérica humana o HAS), proteína similar a la elastina (ELP), PAS, HAP, GLK, CTP, transferrina y similares. En algunas realizaciones, la proteína químérica puede fusionarse o conjugarse con un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, tal como un fragmento Fc. Por ejemplo, la proteína químérica puede fusionarse con el N-terminal o el C-terminal del dominio Fc de la inmunoglobulina (Ig) G humana. En diversas realizaciones, cada una de las proteínas químéricas individuales se fusiona con uno o más de los agentes descritos en BioDrugs (2015) 29:215-239.

Producción de proteínas químéricas

En el presente documento se describen procedimientos para producir las proteínas químéricas de la invención. Por ejemplo, las secuencias de ADN que codifican las proteínas químéricas de la invención (por ejemplo, las secuencias de ADN que codifican el agente de señalización modificado y la fracción objetivo y el enlazador) pueden sintetizarse químicamente utilizando procedimientos conocidos en la técnica. Las secuencias de ADN sintético pueden ligarse a otras secuencias de nucleótidos apropiadas, incluyendo, por ejemplo, secuencias de control de expresión, para producir constructos de expresión génica que codifiquen las proteínas químéricas deseadas. Por consiguiente, en diversas realizaciones, la presente invención proporciona ácidos nucleicos aislados que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína químérica de la invención.

Los ácidos nucleicos que codifican la proteína químérica de la invención pueden incorporarse (ligarse) en vectores de expresión, que pueden introducirse en células huésped mediante técnicas de transfección, transformación o transducción. Por ejemplo, los ácidos nucleicos que codifican la proteína químérica de la invención pueden introducirse en las células huésped mediante transducción retroviral. Las células huésped ilustrativas son células *E.coli*, células de ovario de hámster chino (CHO), células de riñón embrionario humano 293 (HEK 293), células HeLa, células de riñón de hámster bebé (BHK), células de riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2) y células de mieloma. Las células huésped transformadas pueden cultivarse en condiciones que permitan a las células huésped expresar los genes que codifican la proteína químérica de la invención. En consecuencia, en diversas realizaciones, la presente invención proporciona vectores de expresión que comprenden ácidos nucleicos que codifican la proteína químérica de la invención. En diversas realizaciones, la presente invención proporciona además células huésped que comprenden dichos vectores de expresión.

Las condiciones específicas de expresión y purificación variarán en función del sistema de expresión empleado. Por ejemplo, si un gen se va a expresar en *E. coli*, primero se clona en un vector de expresión colocando el gen modificado corriente abajo de un promotor bacteriano adecuado, por ejemplo, Trp o Tac, y una secuencia señal procariota. En otro ejemplo, si el gen manipulado se va a expresar en células huésped eucariotas, por ejemplo, células CHO, se inserta primero en un vector de expresión que contenga, por ejemplo, un promotor eucariota adecuado, una señal de secreción, potenciadores y diversos intrones. El constructo genético puede introducirse en las células huésped mediante técnicas de transfección, transformación o transducción.

La proteína químérica de la invención puede producirse cultivando una célula huésped transfectada con un vector de expresión que codifique la proteína químérica en condiciones que permitan la expresión de la proteína. Tras la expresión, la proteína puede cosecharse y purificarse utilizando técnicas bien conocidas en la técnica, por ejemplo, etiquetas de afinidad tal como la glutatión-S-transferasa (GST) y etiquetas de histidina o por cromatografía.

Por consiguiente, en diversas realizaciones, la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica una proteína químérica de la presente invención. En diversas realizaciones, la presente invención proporciona una célula huésped que comprende un ácido nucleico que codifica una proteína químérica de la presente invención.

Sales y excipientes farmacéuticamente aceptables

Las proteínas químéricas descritas en el presente documento pueden poseer un grupo funcional suficientemente básico, que puede reaccionar con un ácido inorgánico u orgánico, o un grupo carboxilo, que puede reaccionar con una base inorgánica u orgánica, para formar una sal farmacéuticamente aceptable. Una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable se forma a partir de un ácido farmacéuticamente aceptable, como es bien conocido en la técnica. Tales sales incluyen las sales farmacéuticamente aceptables enumeradas en, por ejemplo, Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977) y The Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection, and Use. P. H. Stahl y C. G. Wermuth (eds.), Verlag, Zurich (Suiza) 2002.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo no limitativo, sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucaronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato,

bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, canforesulfonato, pamoato, fenilacetato, trifluoroacetato, acrilato, clorobenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, metilbenzoato, o-acetoxibenzoato, naftaleno-2-benzoato, isobutirato, fenilbutirato, α-hidroxibutirato, butileno-1,4-dicarboxilato, hexino-1,4-dicarboxilato, caprato, caprilato, cinamato, glicolato, heptanoato, hipurato, malato, hidroximaleato, malonato, mandelato, mesilato, nicotinato, ftalato, teraftalato, propiolato, propionato, fenilpropionato, sebacato, suberato, p-bromobencenosulfonato, clorobencenosulfonato, etilsulfonato, 2-hidroxietilsulfonato, metilsulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, naftaleno-1,5-sulfonato, xilenosulfonato y sales de tartarato.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" también se refiere a una sal de las composiciones de la presente invención que tiene un grupo funcional ácido, tal como un grupo funcional ácido carboxílico, y una base. Las bases adecuadas incluyen, pero no se limitan a, hidróxidos de metales alcalinos tales como sodio, potasio y litio; hidróxidos de metales alcalinotérreos como calcio y magnesio; hidróxidos de otros metales, tales como aluminio y zinc; amoniaco, y aminas orgánicas, como mono-, di-, o tri-alquilaminas no sustituidas o hidroxisustituidas, diciclohexilamina; tributilamina; piridina; N-metil, N-etilamina; dietilamina; trietilamina; mono-, bis- o tris-(2-OH-alquilaminas inferiores), tales como mono-; bis-, o tris-(2-hidroxietil)amina, 2-hidroxi-tert-butilamina, o tris-(hidroximetil)methylamina, N,N-di-alquil-N-(hidroxil-alquil)-aminas, tales como N,N-dimetil-N-(2-hidroxietil)amina o tri-(2-hidroxietil)amina; N-metil-D-glucamina; y aminoácidos tales como arginina, lisina, y similares.

En algunas realizaciones, las composiciones descritas en el presente documento están en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

Composiciones y formulaciones farmacéuticas

En diversas realizaciones, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden las proteínas químicas descritas en el presente documento y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede administrarse a un sujeto como componente de una composición que comprende un portador o vehículo farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones pueden comprender opcionalmente una cantidad adecuada de un excipiente farmacéuticamente aceptable para proporcionar la forma de administración adecuada.

En diversas realizaciones, los excipientes farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites, incluyendo los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los excipientes farmacéuticos pueden ser, por ejemplo, solución salina, goma acacia, gelatina, pasta de almidón, talco, queratina, sílice coloidal, urea y similares. Además, pueden utilizarse agentes auxiliares, estabilizadores, espesantes, lubricantes y colorantes. En una realización, los excipientes farmacéuticamente aceptables son estériles cuando se administran a un sujeto. El agua es un excipiente útil cuando cualquier agente aquí descrito se administra por vía intravenosa. Las soluciones salinas y las soluciones acuosas de dextrosa y glicerol también pueden emplearse como excipientes líquidos, específicamente para soluciones inyectables. Entre los excipientes farmacéuticos adecuados se encuentran también el almidón, la glucosa, la lactosa, la sacarosa, la gelatina, la malta, el arroz, la harina, la creta, el gel de silice, el estearato de sodio, el monoestearato de glicerol, el talco, el cloruro de sodio, la leche desnatada en polvo, el glicerol, el propilenglicol, el agua, el etanol y similares. Cualquier agente descrito en el presente documento, si se desea, también puede comprender cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes amortiguadores del pH. Otros ejemplos de excipientes farmacéuticos adecuados se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences 1447-1676 (Alfonso R. Gennaro eds., 19^a ed. 1995).

La presente invención incluye las composiciones farmacéuticas descritas (y/o agentes terapéuticos adicionales) en diversas formulaciones. Cualquier composición farmacéutica inventiva (y/o agentes terapéuticos adicionales) descrita en el presente documento puede adoptar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, gotas, comprimidos, píldoras, gránulos, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, cápsulas de gelatina, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, pulverizaciones, suspensiones, polvo liofilizado, suspensión congelada, polvo desecado o cualquier otra forma adecuada para su uso. En una realización, la composición se presenta en forma de cápsula. En otra realización, la composición se presenta en forma de comprimido. En otra realización, la composición farmacéutica se formula en forma de cápsula de gelatina blanda. En otra realización, la composición farmacéutica se formula en forma de cápsula de gelatina. En otra realización, la composición farmacéutica se formula en forma líquida.

Cuando sea necesario, las composiciones farmacéuticas inventivas (y/o agentes adicionales) también pueden incluir un agente solubilizante. Además, los agentes pueden administrarse con un vehículo o dispositivo de administración adecuado conocido en la técnica. Las terapias combinadas descritas en el presente documento pueden administrarse conjuntamente en un único vehículo o dispositivo de administración.

Las formulaciones que comprenden las composiciones farmacéuticas inventivas (y/o agentes adicionales) de la presente invención pueden presentarse convenientemente en formas de dosificación unitarias y pueden prepararse por cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Tales

procedimientos incluyen generalmente el paso de poner los agentes terapéuticos en asociación con un portador, que constituye uno o más ingredientes accesorios. Típicamente, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el agente terapéutico con un portador líquido, un portador sólido finamente dividido, o ambos, y luego, si es necesario, moldeando el producto en formas de dosificación de la formulación deseada (*por ejemplo*, granulación húmeda o seca, mezclas de polvos, etc., seguidas de tableteado utilizando procedimientos convencionales conocidos en la técnica).

En diversas realizaciones, cualquier composición farmacéutica (y/o agentes adicionales) descritos en el presente documento se formula de acuerdo con procedimientos rutinarios como una composición adaptada para un modo de administración descrito en el presente documento.

Las vías de administración incluyen, por ejemplo: oral, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, sublingual, intranasal, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, por inhalación o tópica. La administración puede ser local o sistémica. En algunas realizaciones, la administración se efectúa por vía oral. En otra realización, la administración se realiza mediante inyección parenteral. El modo de administración puede dejarse a discreción del facultativo y depende en parte de la localización de la afección. En la mayoría de los casos, la administración da lugar a la liberación de cualquier agente descrito en el presente documento en el torrente sanguíneo.

En una realización, la proteína químérica descrita en el presente documento se formula de acuerdo con procedimientos rutinarios como una composición adaptada para la administración oral. Las composiciones para administración oral pueden presentarse en forma de comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, gránulos, polvos, emulsiones, cápsulas, jarabes o elixires, por ejemplo. Las composiciones administradas por vía oral pueden comprender uno o más agentes, por ejemplo, edulcorantes como fructosa, aspartamo o sacarina; aromatizantes tales como menta, aceite de gaulteria o cereza; colorantes y conservantes, para proporcionar un preparado farmacéuticamente apetecible. Además, cuando se presentan en forma de comprimidos o píldoras, las composiciones pueden recubrirse para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal, proporcionando así una acción sostenida durante un periodo de tiempo prolongado. Las membranas selectivamente permeables que rodean una conducción osmóticamente activa de cualquiera de las proteínas químéricas descritas en el presente documento también son adecuadas para composiciones administradas por vía oral. En estas últimas plataformas, el fluido del entorno que rodea la cápsula es absorbido por el compuesto impulsor, que se hincha para desplazar el agente o la composición del agente a través de una abertura. Estas plataformas de administración pueden proporcionar un perfil de administración esencialmente de orden cero, a diferencia de los perfiles con picos de las formulaciones de liberación inmediata. También puede ser útil un material de retardo tal como el monoestearato de glicerol o el estearato de glicerol. Las composiciones orales pueden incluir excipientes estándar tales como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa y carbonato de magnesio. En una realización, los excipientes son de calidad farmacéutica. Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión tales como, por ejemplo, alcoholos isostearílicos etoxilados, sorbitol polioxietilenado y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, tragacanto, etc., y sus mezclas.

Las formas de dosificación adecuadas para la administración parenteral (*por ejemplo*, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea e intraarticular) incluyen, por ejemplo, soluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones y similares. También pueden fabricarse en forma de composiciones sólidas estériles (*por ejemplo*, composición liofilizada), que pueden disolverse o suspenderse en medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Pueden contener, por ejemplo, agentes de suspensión o dispersión conocidos en la técnica. Los componentes de la formulación adecuados para la administración parenteral incluyen un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos tales como alcohol benílico o metilparabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como EDTA; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa.

Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina tamponada con fosfato (PBS). El portador debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento, y debe preservarse frente a los microorganismos. El portador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietenglicol líquido) y mezclas adecuadas de los mismos.

Las composiciones proporcionadas en el presente documento, solas o en combinación con otros componentes adecuados, pueden hacerse en formulaciones de aero^s (es decir, "nebulizadas") para ser administradas por inhalación. Las formulaciones en aerosol pueden colocarse en propulsores presurizados aceptables, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

Todas las composiciones farmacéuticas inventivas (y/o agentes adicionales) descritas en el presente

documento pueden administrarse por medios de liberación controlada o sostenida o mediante dispositivos de administración bien conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Patente de EE. UU. Nos. 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; 4,008,719; 5,674,533; 5,059,595; 5,591,767; 5,120,548; 5,073,543; 5,639,476; 5,354,556; y 5,733,556. Dichas formas de dosificación 5 pueden ser útiles para proporcionar una liberación controlada o sostenida de uno o más principios activos utilizando, por ejemplo, hidropropilcelulosa, hidropropilmetylcelulosa, polivinilpirrolidona, otras matrices 10 poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, recubrimientos multicapa, micropartículas, liposomas, microesferas o una combinación de los mismos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Las formulaciones adecuadas de liberación controlada o sostenida conocidas por los 15 expertos en la técnica, incluyendo las descritas en el presente documento, pueden seleccionarse fácilmente para su uso con los ingredientes activos de los agentes descritos en el presente documento. Así pues, la invención proporciona formas de dosificación unitarias adecuadas para la administración oral, tal como, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel y cápsulas adaptadas para la liberación controlada o sostenida.

15 La liberación controlada o sostenida de un ingrediente activo puede ser estimulada por diversas condiciones, incluyendo, pero no limitado a, cambios en el pH, cambios en la temperatura, estimulación por una longitud de onda apropiada de luz, concentración o disponibilidad de enzimas, concentración o disponibilidad de agua, u otras condiciones fisiológicas o compuestos.

20 En otra realización, un sistema de liberación controlada puede colocarse en las proximidades de la zona objetivo a tratar, requiriendo así sólo una fracción de la dosis sistémica (*véase, por ejemplo*, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138 (1984)). Otros sistemas de liberación controlada analizados en la revisión de Langer, 1990, Science 249:1527-1533).

25 Las formulaciones farmacéuticas son preferentemente estériles. La esterilización puede realizarse, por ejemplo, por filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición se liofiliza, la esterilización por filtración puede realizarse antes o después de la liofilización y reconstitución.

30 Administración y posología (no forma parte de la invención)

35 Se apreciará que la dosis real de la proteína químérica que se va a administrar variará según la forma de dosificación particular, y el modo de administración. Los expertos en la técnica pueden tener en cuenta muchos factores que pueden modificar la acción de la proteína químérica (*por ejemplo, el peso corporal, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la tasa de excreción, el estado del sujeto, las combinaciones de fármacos, la disposición genética y las sensibilidades a las reacciones*). La administración puede realizarse de forma continua o en una o más dosis discretas dentro de la dosis máxima tolerada. Los 40 expertos en la técnica pueden determinar las tasas de administración óptimas para un conjunto determinado de condiciones mediante pruebas convencionales de administración de dosis.

45 En algunas realizaciones, una dosis adecuada de la proteína químérica está en un intervalo de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 g/kg de peso corporal del sujeto, aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1 g/kg de peso corporal del sujeto, aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del sujeto, aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del sujeto, por ejemplo, aproximadamente 0,01 mg/kg, aproximadamente 0,02 mg/kg, aproximadamente 0,03 mg/kg, aproximadamente 0,04 mg/kg, aproximadamente 0,05 mg/kg, aproximadamente 0,06 mg/kg, aproximadamente 0,07 mg/kg, aproximadamente 0,08 mg/kg, aproximadamente 0,09 mg/kg, aproximadamente 0,1 mg/kg, aproximadamente 0,2 mg/kg, aproximadamente 0,3 mg/kg, 50 aproximadamente 0,4 mg/kg, aproximadamente 0,5 mg/kg, aproximadamente 0,6 mg/kg, aproximadamente 0,7 mg/kg, aproximadamente 0,8 mg/kg, aproximadamente 0,9 mg/kg, aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 1,1 mg/kg, aproximadamente 1,2 mg/kg, aproximadamente 1,3 mg/kg, aproximadamente 1,4 mg/kg, aproximadamente 1,5 mg/kg, aproximadamente 1,6 mg/kg, aproximadamente 1,7 mg/kg, aproximadamente 1,8 mg/kg, 55 1,9 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente 9 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, aproximadamente 1 g/kg de peso corporal, aproximadamente 10 g/kg de peso corporal, incluidos todos los valores e intervalos entre ellos.

60 Las dosis individuales de la proteína químérica pueden administrarse en formas de dosificación unitarias (*por ejemplo, comprimidos o cápsulas*) que contienen, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 100 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 75 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 50 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 25 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 10 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 7,5 g, de 65 aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 2,5 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1 g, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 100

mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 90 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 80 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 70 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 40 mg de principio activo, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 mg por unidad de dosificación, o de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 80 mg por unidad de dosificación. Por ejemplo, una forma de dosificación unitaria puede ser de aproximadamente 0,01 mg, aproximadamente 0,02 mg, aproximadamente 0,03 mg, aproximadamente 0,04 mg, aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,06 mg, aproximadamente 0,07 mg, aproximadamente 0,08 mg, aproximadamente 0,09 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 0,2 mg, aproximadamente 0,3 mg, aproximadamente 0,4 mg, aproximadamente 0,5 mg, aproximadamente 0,6 mg, aproximadamente 0,7 mg, aproximadamente 0,8 mg, aproximadamente 0,9 mg, aproximadamente 1 mg, aproximadamente 2 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 4 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 6 mg, aproximadamente 7 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 9 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 65 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 85 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 95 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 1 g, aproximadamente 2....5 g, aproximadamente 5 g, aproximadamente 10 g, aproximadamente 25 g, aproximadamente 50 g, aproximadamente 75 g, aproximadamente 100 g, incluidos todos los valores e intervalos entre ellos.

En una realización, la proteína químérica se administra en una cantidad de 0,01 mg a aproximadamente 100 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 75 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 50 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 25 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 10 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 7,5 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 5 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 2,5 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 1 g diarios, de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 100 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 100 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 95 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 90 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 85 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 80 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 75 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 70 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 65 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 60 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 55 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 50 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 45 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 40 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 35 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 30 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 25 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 20 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 15 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3 mg diarios, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1 mg diarios, o de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 80 mg diarios. En diversas realizaciones, la proteína químérica se administra a una dosis diaria de aproximadamente 0,01 mg, aproximadamente 0,02 mg, aproximadamente 0,03 mg, aproximadamente 0,04 mg, aproximadamente 0,05 mg, aproximadamente 0,06 mg, aproximadamente 0,07 mg, aproximadamente 0,08 mg, aproximadamente 0,09 mg, aproximadamente 0,1 mg, aproximadamente 0,2 mg, aproximadamente 0,3 mg, aproximadamente 0,4 mg, aproximadamente 0,5 mg, aproximadamente 0,6 mg, aproximadamente 0,7 mg, aproximadamente 0,8 mg, aproximadamente 0,9 mg, aproximadamente 1 mg, aproximadamente 2 mg, aproximadamente 3 mg, aproximadamente 4 mg, aproximadamente 5 mg, aproximadamente 6 mg, aproximadamente 7 mg, aproximadamente 8 mg, aproximadamente 9 mg, aproximadamente 10 mg, aproximadamente 15 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 25 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 35 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 45 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 55 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 65 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 75 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 85 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 95 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 1 g, aproximadamente 2,5 g, aproximadamente 5 g, aproximadamente 7,5 g, aproximadamente 10 g, aproximadamente 25 g, aproximadamente 50 g, aproximadamente 75 g, aproximadamente 100 g, incluidos todos los valores e intervalos entre ellos.

La composición farmacéutica que comprende la proteína químérica puede administrarse, por ejemplo, más de una vez al día (*por ejemplo*, aproximadamente dos veces, aproximadamente tres veces, aproximadamente cuatro veces, aproximadamente cinco veces, aproximadamente seis veces, aproximadamente siete veces, aproximadamente ocho veces, aproximadamente nueve veces o aproximadamente diez veces al día),

aproximadamente una vez al día, aproximadamente cada dos días, aproximadamente cada tres días, aproximadamente una vez a la semana, aproximadamente una vez cada dos semanas, aproximadamente una vez al mes, aproximadamente una vez cada dos meses, aproximadamente una vez cada tres meses, aproximadamente una vez cada seis meses o aproximadamente una vez al año.

5

Terapia combinada y agentes terapéuticos adicionales (no forman parte de la invención)

En diversas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente invención se coadministra junto con agente(s) terapéutico(s) adicional(es). La administración conjunta puede ser simultánea o secuencial.

10

En una realización, el agente terapéutico adicional y la proteína químérica de la presente invención se administran a un sujeto simultáneamente. El término "simultáneamente", tal como se utiliza en el presente documento, significa que el agente terapéutico adicional y la proteína químérica se administran con una separación temporal de no más de aproximadamente 60 minutos, tal como no más de aproximadamente 30 minutos, no más de aproximadamente 20 minutos, no más de aproximadamente 10 minutos, no más de aproximadamente 5 minutos o no más de aproximadamente 1 minuto. La administración del agente terapéutico adicional y de la proteína químérica puede realizarse mediante la administración simultánea de una única formulación (por ejemplo, una formulación que incluya el agente terapéutico adicional y la proteína químérica) o de formulaciones separadas (por ejemplo, una primera formulación que incluya el agente terapéutico adicional y una segunda formulación que incluya la proteína químérica).

15

20

La coadministración no requiere que los agentes terapéuticos se administren simultáneamente, si el momento de su administración es tal que las actividades farmacológicas del agente terapéutico adicional y la proteína químérica se superponen en el tiempo, ejerciendo así un efecto terapéutico combinado. Por ejemplo, el agente terapéutico adicional y la proteína químérica pueden administrarse secuencialmente. El término "secuencialmente", tal como se utiliza aquí, significa que el agente terapéutico adicional y la proteína químérica se administran con una separación temporal de más de aproximadamente 60 minutos. Por ejemplo, el tiempo entre la administración secuencial del agente terapéutico adicional y la proteína químérica pueden tener más de aproximadamente 60 minutos, más de aproximadamente 2 horas, más de aproximadamente 5 horas, más de aproximadamente 10 horas, más de aproximadamente 1 día, más de aproximadamente 2 días, más de aproximadamente 3 días, más de aproximadamente 1 semana de diferencia, con más de 2 semanas de diferencia, o más de aproximadamente un mes de diferencia. Los tiempos óptimos de administración dependerán de las tasas de metabolismo, excreción y/o de la actividad farmacodinámica del agente terapéutico adicional y de la proteína químérica administrada. Puede administrarse primero el agente terapéutico adicional o la célula proteica químérica.

25

La coadministración tampoco requiere que los agentes terapéuticos se administren al sujeto por la misma vía de administración. Más bien, cada agente terapéutico puede administrarse por cualquier vía apropiada, por ejemplo, parenteral o no parenteral.

30

En algunas realizaciones, la proteína químérica descrita en el presente documento actúa sinérgicamente cuando se coadministra con otro agente terapéutico. En tales realizaciones, la proteína químérica y el agente terapéutico adicional pueden administrarse a dosis inferiores a las empleadas cuando los agentes se utilizan en el contexto de una monoterapia.

35

En algunas realizaciones, los agentes quimioterapéuticos se utilizan como agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, sin limitación, dicha combinación de las presentes proteínas químéricas y agente quimioterapéutico encuentran uso en el tratamiento de cánceres, tal como se describe en otra parte del presente documento. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen, entre otros, agentes alquilantes tales como tiotepa y ciclosfosfamida CYTOXAN; alquilsulfonatos tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas, tales como benzodopa, carboquona, meturedopa y uredopa; etileniminas y metilamelaminas, tales como altretamina, trietilenemelamina, trietilenestosforamida, trietilenetostosforamida y trimetilolmelamina; acetogeninas (por ejemplo, bullatacina y bullatacinona); una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán); briostatina; cally estatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); criptofecinas (por ejemplo, criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos KW-2189 y CB 1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictiina; espongistatina; mostazas nitrogenadas tales como clorambucilo, clorafanfazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza uracilo; nitrosureas tales como la carmustina, la clorozotocina, la fotemustina, la lomustina, la nimustina y la ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, calicheamicina, especialmente calicheamicina gammall y calicheamicina omegall (véase, por ejemplo, Agnew, Chem. Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)); dinemicina, incluyendo la dinemicina A; bifosfonatos, tal como el clodronato; una esperamicina; así como el cromóforo neocarzinostatina y los cromóforos antibióticos enediyne relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina carabicina, caminomicina, carzinofilina, cromomicina, dactinomicina, daunorrubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMICINA doxorrubicina (incluyendo la morfolino- doxorrubicina, cianomorfolino-

doxorubicina, 2-pirrolino-doxorrubicina y deoxi doxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tal como la mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorrubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetabolitos tales como el metotrexato y el 5-fluorouracilo (5-FU); 5 análogos del ácido fólico tal como la denopterina, el metotrexato, la pteropterina, el trimetrexato; análogos de las purinas tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de las pirimidinas como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideoxiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitostanol, mepitiostano, testolactona; 10 antiadrenales tales como minoglutetimida, mitotano, trilostano; reponedores de ácido fólico como ácido frolínico; aceglatona; glucósido de aldosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; demecolcina; diaziquona; elformitina; acetato de eliptinio; una epotilona; etoglúcido; nitroso de galio; hidroxiurea; lentinan; ionidainina; maytansinoles tales como maytansina y ansamitocinas; 15 mitoguazona; mitoxantrona; moidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; losoxantrona; ácido podofilílico; 2-etilhidrazida; procarbazina; complejo polisacárido PSK (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofuran; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2"-triclorotrietilamina; tricotecenos (*por ejemplo*, Toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina; dacarbazine; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); ciclofosfamida; tiotepa; taxoides, por *ejemplo*, TAXOL paclitaxel (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAZANE formulación de paclitaxel en nanopartículas sin cremiforo y con ingeniería de albúmina (American Pharmaceutical Partners, Schaumberg, 111.), y TAXOTERE doxetaxel (Rhone-Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucil; GEMZAR gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos del platino como cisplatino, oxaliplatino y carboplatino; vinblastina; platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina; NAVELBINE. vinorelbina; novantrona; tenipósido; edatraxato; daunomicina; aminopterina; xeloda; ibandronato; irinotecán (Camptosar, CPT-11) (incluyendo el régimen de tratamiento de irinotecán con 5-FU y leucovorina); inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como el ácido retinoico; capecitabina; combretastatina; leucovorina (LV); oxaliplatino, incluyendo el régimen de tratamiento con oxaliplatino (FOLFOX); lapatinib (Tykerb); inhibidores de PKC- α , Raf, H-Ras, EGFR (*por ejemplo*, erlotinib (Tarceva)) y VEGF-A que reducen la proliferación celular y sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores. Además, los procedimientos de tratamiento 20 pueden incluir el uso de radiación. Además, los procedimientos de tratamiento pueden incluir el uso de terapia fotodinámica.

En algunas realizaciones, incluidas, sin limitación, las aplicaciones para enfermedades infecciosas se utilizan antiinfecciosos como agentes terapéuticos adicionales. En algunas realizaciones, el antiinfeccioso es un agente antivírico que incluye, entre otros, Abacavir, Aciclovir, Adefovir, Amprenavir, Atazanavir, Cidofovir, Darunavir, 25 Delavirdina, Didanosina, Docosanol, Efavirenz, Elvitegravir, Emtricitabina, Enfuvirtida, Etravirina, Famciclovir y Foscarnet. En algunas realizaciones, el antiinfeccioso es un agente antibacteriano que incluye, entre otros, antibióticos de cefalosporina (cefalexina, cefuroxima, cefadroxilo, cefazolina, cefalotina, cefaclor, cefamandol, cefoxitina, cefprozilo y ceftobiprol); antibióticos de fluoroquinolona (cipro, Levaquin, floxina, tequin, avelox y norflo); antibióticos de tetraciclina (tetraciclina, minociclina, oxitetraciclina y doxiciclina); antibióticos de 30 penicilina (amoxicilina, ampicilina, penicilina V, dicloxacilina, carbenicilina, vancomicina y meticilina); antibióticos monobactámicos (aztreonam); y antibióticos carbapenémicos (ertapenem, doripenem, imipenem/cilastatina y meropenem). En algunas realizaciones, los antiinfecciosos incluyen agentes antipalúdicos (*por ejemplo*, cloroquina, quinina, mefloquina, primaquina, doxiciclina, artemeter/lumefantrina, atovacauna/proguanil y sulfadoxina/pirimetamina), metronidazol, tinidazol, ivermectina, pamoato de pirantel y 35 albendazol.

En algunas realizaciones, incluidas, sin limitación, las aplicaciones autoinmunes, el agente terapéutico adicional es un agente inmunosupresor. En algunas realizaciones, el agente inmunosupresor es un agente antiinflamatorio, tal como un agente antiinflamatorio esteroideo o un agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Los esteroides, en particular los corticosteroides suprarrenales y sus análogos sintéticos, son bien conocidos en la técnica. Ejemplos de corticosteroides útiles incluyen, sin limitación, hidroxiltiamcinolona, alfa-metil dexametasona, beta-metil betametasona, dipropionato de beclometasona, benzoato de betametasona, dipropionato de betametasona, valerato de betametasona, valerato de clobetasol, desonida, desoximetasona, dexametasona, diacetato de diflorasona, valerato de diflucortolona, fluadrenolona, acetónido de flucolorolona, 40 pivalato de flumetasona, acetónido de flusolinolona, fluocinonida, butiléster de flucortina, fluocortolona, acetato de fluprednideno (fluprednildeno), flurandrenolona, halcionida, acetato de hidrocortisona, hidrocortisona pero yrato, metilprednisolona, acetónido de triamcinolona, cortisona, cortodoxona, flucetonida, hidrocortisona, diacetato de difluorosona, acetónido de fluradrenolona, medrysona, amcinafel, amcinafida, betametasona y el resto de sus ésteres, clorprednisona, cloctertonola, clescinolona, dclorisona, difluprednato, flucolorolona, flunisolida, fluorometalona, fluperolona, fluprednisolona, hidrocortisona, prednisona, parametasona, prednisolona, prednisona, dipropionato de beclometasona. (AINE) que pueden utilizarse incluyen, entre otros, ácido salicílico, ácido acetilsalicílico, salicilato de metilo, salicilato de glicol, salicilmidas, ácido bencil-2,5-diacetoxibenzoico, ibuprofeno, fulindaco, naproxeno, ketoprofeno, etofenamato, fenilbutazona e indometacina. 45 En algunas realizaciones, el agente inmunosupresor puede ser citostático, tales como agentes alquilantes, antimetabolitos (*por ejemplo*, azatioprina, metotrexato), antibióticos citotóxicos, anticuerpos (*por ejemplo*, basiliximab, daclizumab y muromonab), antiinmunofilinas (*por ejemplo*, ciclosporina, tacrolimus, sirolimus),

interferones, opioides, proteínas de unión al TNF, micofenolatos y pequeños agentes biológicos (*por ejemplo*, fingolimod, miriocina). Otros agentes antiinflamatorios se describen, por ejemplo, en Patente de EE.UU No. 4,537,776.

- 5 En algunas realizaciones, se administra terapia de combinación con uno o más agentes inmunomoduladores, por ejemplo, sin limitación, agentes que modulan el punto de control inmunitario. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador se dirige a uno o más de PD-1, PD-L1 y PD-L2. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador es un inhibidor de PD-1. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo específico para uno o más de PD-1, PD-L1 y PD-L2 como se describe en el presente documento.
- 10 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo tal como, a título no limitativo, nivolumab, (ONO-4538/BMS-936558, MDX1106, OPDIVO, BRISTOL MYERS SQUIBB), pembrolizumab (KEYTRUDA, MERCK), pidilizumab (CT-011, CURE TECH), MK-3475 (MERCK), BMS 936559 (BRISTOL MYERS SQUIBB), MPDL3280A (ROCHE). En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador se dirige a uno o más de los CD137 o CD137L. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo específico para uno o más de CD137 o CD137L. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo tal como, a título no limitativo, urelumab (también conocido como BMS-663513 y anticuerpo anti-4-1BB). En algunas realizaciones, la presente proteína químérica se combina con urelumab (opcionalmente con uno o más de nivolumab, lirilumab y urelumab) para el tratamiento de tumores sólidos y/o linfoma no Hodgkin de células B y/o cáncer de cabeza y cuello y/o mieloma múltiple. En algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un agente dirigido a uno o más de CTLA-4, AP2M1, CD80, CD86, SHP-2 y PPP2R5A. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo específico para uno o más de CTLA-4, AP2M1, CD80, CD86, SHP-2 y PPP2R5A. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo tal como, a título meramente enunciativo, ipilimumab (MDX-010, MDX-101, Yervoy, BMS) y/o tremelimumab (Pfizer). En algunas realizaciones, la presente proteína químérica se combina con ipilimumab (opcionalmente con bavituximab) para el tratamiento de uno o más de los melanomas, cáncer de próstata y cáncer de pulmón. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador se dirige a CD20. En diversas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo CD20 específico. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente inmunomodulador es un anticuerpo tal como, a título no limitativo, Ofatumumab (GENMAB), obinutuzumab (GAZYVA), AME-133v (APPLIED MOLECULAR EVOLUTION), Ocrelizumab (GENENTECH), TRU-015 (TRUBION/EMERGENT), veltuzumab (IMMU-106).
- 15
- 20
- 25
- 30

En algunas realizaciones, se administra la terapia de combinación con uno o más agentes químéricos descritos en los documentos WO 2013/10779, WO 2015/007536, WO 2015/007520, WO 2015/007542y WO 2015/007903.

- 35 En algunas realizaciones, la proteína químérica descrita en el presente documento incluye derivados que son modificados, es decir, por la unión covalente de cualquier tipo de molécula a la composición de tal manera que la unión covalente no impide la actividad de la composición. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, los derivados incluyen la composición que ha sido modificada por, *inter alia*, glicosilación, lipidación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/bloqueantes conocidos, escisión proteolítica, unión a un ligando celular u otra proteína, etc. Cualquiera de las numerosas modificaciones químicas puede llevarse a cabo mediante técnicas conocidas, incluyendo, pero sin limitarse a, escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica de tunicamicina, etc.
- 40
- 45 En otras realizaciones, la proteína químérica descrita en el presente documento comprende además un agente citotóxico, que comprende, en realizaciones ilustrativas, una toxina, un agente quimioterapéutico, un radioisótopo y un agente que causa apoptosis o muerte celular. Dichos agentes pueden conjugarse con una composición descrita en el presente documento.
- 50 La proteína químérica descrita en el presente documento puede modificarse postraduccionalmente para añadir partes efectoras tales como enlazadores químicos, partes detectables tales como, por ejemplo, colorantes fluorescentes, enzimas, sustratos, materiales bioluminiscentes, materiales radiactivos y partes quimioluminiscentes, o partes funcionales tales como, por ejemplo, estreptavidina, avidina, biotina, una citotoxina, un agente citotóxico y materiales radiactivos.
- 55 Agentes citotóxicos ilustrativos incluyen, pero no se limitan a, metotrexato, aminopterina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracilo decarbazina; agentes alquilantes tales como mecloretamina, tioepa cloramбуcl, melfalán, carmustina (BSNU), mitomicina C, lomustina (CCNU), 1-metilnitrosourea, ciclofosfamida, mecloretamina, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C, cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino y carboplatino (paraplatin); las antraciclinas incluyen daunorrubicina (antes daunomicina), doxorubicina (adriamicina), detorubicina, carminomicina, idarrubicina, epirubicina, mitoxantrona y bisantreno; los antibióticos incluyen la dactinomicina (actinomicina D), la bleomicina, la calicheamicina, la mitramicina y la antramicina (AMC); y los agentes antimitóticos como los alcaloides de la vinca, la vincristina y la vinblastina. Otros agentes citotóxicos incluyen el paclitaxel (taxol), la ricina, la exotoxina de pseudomonas, la gemcitabina, la citocalasina B, la gramicidina D, el bromuro de etidio, la emetina, el etopósido, el tenopósido, la colchicina, la dihidroxiantracina diona, 1-dehidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína,
- 60
- 65

propranolol, puromicina, procarbazina, hidroxiurea, asparaginasa, corticosteroides, mitotano (O,P'-(DDD)), interferones y mezclas de estos agentes citotóxicos.

- Otros agentes citotóxicos incluyen, pero no se limitan a, agentes quimioterapéuticos tales como carboplatino, cisplatino, paclitaxel, gemcitabina, calicheamicina, doxorrubicina, 5-fluorouracilo, mitomicina C, actinomicina D, ciclofosfamida, vincristina, bleomicina, antagonistas del VEGF, antagonistas del EGFR, platinas, taxoles, irinotecán, 5-fluorouracilo, gemcitabina, leucovorina, esteroides, ciclofosfamida, melfalán, alcaloides de la vinca (*por ejemplo*, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina), mustinas, inhibidores de la tirosina cinasa, radioterapia, antagonistas de las hormonas sexuales, moduladores selectivos de los receptores de andrógenos, moduladores selectivos de los receptores de estrógenos, antagonistas del PDGF, antagonistas del TNF, antagonistas de la IL-1, interleucinas (*por ejemplo*, IL-12 o IL-2). p.ej. IL-12 o IL-2), antagonistas de IL-12R, anticuerpos monoclonales conjugados con toxinas, anticuerpos monoclonales específicos de抗ígenos tumorales, Erbitux, Avastin, Pertuzumab, anticuerpos anti-CD20, Rituxan, ocrelizumab, ofatumumab, DXL625, HERCEPTIN®, o cualquier combinación de los mismos. Las enzimas tóxicas de plantas y bacterias, tales como la ricina, la toxina diftérica y la toxina de Pseudomonas, pueden conjugarse con los agentes terapéuticos (*por ejemplo*, anticuerpos) para generar reactivos que maten a un tipo celular específico (Youle, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5483 (1980); Gilliland, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:4539 (1980); Krolick, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 77:5419 (1980)).
- Otros agentes citotóxicos incluyen ribonucleasas citotóxicas tales como las descritas por Goldenberg en Patente de EE. UU. No. 6,653,104 las realizaciones también se refieren a radioinmunoconjungados en los que un radionucleido que emite partículas alfa o beta se acopla de forma estable a la proteína químérica, con o sin el uso de un agente formador de complejos. Estos radionucleidos incluyen emisores beta tales como el fósforo-32, el escandio-47, el cobre-67, el galio-67, el itrio-88, el itrio-90, la Iodina-125, la Iodina-131, el samario-153, el lutecio-177, el renio-186 o el renio-188, y emisores alfa tales como la astatina-211, el plomo-212, el bismuto-212, el bismuto-213 o el actinio-225.

Otras moléculas detectables ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, peroxidasa de rábano picante, acetilcolinesterasa, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa y luciferasa. Otros materiales fluorescentes ilustrativos son, entre otros, la rodamina, la fluoresceína, el isotiocianato de fluoresceína, la umbelifera, la diclorotriazinilamina, la ficoeritrina y el cloruro de dansilo. Otras moléculas quimioluminiscentes ilustrativas incluyen, entre otras, el luminol. Otros materiales bioluminiscentes ilustrativos son, entre otros, la luciferina y la aequorina. Otros materiales radiactivos ilustrativos incluyen, entre otros, Iodina-125, carbono-14, azufre-35, tritio y fósforo-32.

Procedimientos de tratamiento (no forman parte de la invención)

Los procedimientos y composiciones descritos en el presente documento tienen aplicación en el tratamiento de diversas enfermedades y trastornos, incluidos, entre otros, el cáncer, las infecciones, los trastornos inmunitarios, las enfermedades autoinmunitarias y muchas otras enfermedades y trastornos.

Además, cualquiera de los agentes presentes puede usarse en el tratamiento, o la fabricación de un medicamento para tratar, diversas enfermedades y trastornos, incluyendo, pero no limitado a cáncer, infecciones, trastornos inmunes y enfermedades autoinmunes.

Se trata del tratamiento de un cáncer o de un paciente que lo padece. Tal y como se utiliza en el presente documento, el cáncer se refiere a cualquier crecimiento incontrolado de células que pueda interferir con el funcionamiento normal de los órganos y sistemas corporales, e incluye tanto los tumores primarios como los metastásicos. Los tumores primarios o cánceres que migran de su ubicación original y siembran órganos vitales pueden acabar provocando la muerte del sujeto por el deterioro funcional de los órganos afectados. Una metástasis es una célula o grupo de células cancerosas, distintas de la localización del tumor primario, resultante de la diseminación de células cancerosas del tumor primario a otras partes del cuerpo. Las metástasis pueden acabar provocando la muerte del sujeto. Por ejemplo, los cánceres pueden incluir cánceres benignos y malignos, pólipos, hiperplasia, así como tumores latentes o micrometástasis.

Los cánceres ilustrativos que pueden tratarse incluyen, pero no se limitan a, carcinomas, por ejemplo diversos subtipos, incluyendo, por ejemplo, adenocarcinoma, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas y carcinoma de células transicionales), sarcomas (incluyendo, por ejemplo, hueso y tejido blando), leucemias (incluyendo, por ejemplo, mieloide aguda, linfoblástica aguda, leucemias (por ejemplo, mieloide aguda, linfoblástica aguda, mieloide crónica, linfocítica crónica y de células pilosas), linfomas y mielomas (por ejemplo, linfomas Hodgkin y no Hodgkin, de cadena ligera, no secretores, MGUS y plasmocitomas), y cánceres del sistema nervioso central (incluyendo, por ejemplo, cerebrales (*por ejemplo*, gliomas (por ejemplo, astrocitoma, oligodendroglioma y ependimoma), meningioma, adenoma hipofisario y neuromas, y tumores de la médula espinal (*por ejemplo*, meningiomas y neurofibroma).

Los cánceres ilustrativos que pueden tratarse incluyen, pero no se limitan a, carcinoma de células basales,

cáncer del tracto biliar; cáncer de vejiga; cáncer óseo; cáncer cerebral y del sistema nervioso central; cáncer de mama; cáncer del peritoneo; cáncer cervical; coriocarcinoma; cáncer de colon y recto; cáncer del tejido conjuntivo; cáncer del aparato digestivo; cáncer de endometrio; cáncer de esófago; cáncer de ojo; cáncer de cabeza y cuello; cáncer gástrico (incluyendo el cáncer gastrointestinal); glioblastoma; carcinoma hepático; 5 hepatoma; neoplasia intraepitelial; cáncer de riñón o renal; cáncer de laringe; leucemia; cáncer de hígado; cáncer de pulmón (*por ejemplo*, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón y carcinoma escamoso de pulmón); melanoma; mieloma; neuroblastoma; cáncer de cavidad oral (labio, lengua, boca y faringe); cáncer de ovario; cáncer de páncreas; cáncer de próstata; retinoblastoma; rhabdomiosarcoma; cáncer de recto; cáncer del aparato respiratorio; 10 carcinoma de glándulas salivales; sarcoma; cáncer de piel; cáncer de células escamosas; cáncer de estómago; cáncer de testículo; cáncer de tiroides; cáncer de útero o de endometrio; cáncer del aparato urinario; cáncer de vulva; linfoma, incluido el linfoma de Hodgkin y el linfoma no Hodgkin, así como el linfoma de células B (incluyendo el linfoma no Hodgkin (LNH) de bajo grado/folicular; linfoma no Hodgkin (LNH) linfocítico pequeño (LS); linfoma no Hodgkin de grado intermedio/folicular; linfoma no Hodgkin de grado intermedio difuso; linfoma 15 no Hodgkin inmunoblástico de grado alto; linfoma no Hodgkin linfoblastico de grado alto; linfoma no Hodgkin de células pequeñas no hendidas de grado alto; linfoma no Hodgkin de enfermedad voluminosa; linfoma de células del manto; linfoma relacionado con el sida; y macroglobulinemia de Waldenstrom; leucemia linfocítica crónica (LLC); leucemia linfoblastica aguda (LLA); leucemia de células pilosas; leucemia mieloblastica crónica; así como otros carcinomas y sarcomas; y trastorno linfoproliferativo postrasplante (TLPT), así como 20 proliferación vascular anómala asociada a facomatosis, edema (*por ejemplo*, la asociada a tumores cerebrales) y el síndrome de Meigs.

Se divulga el tratamiento de, o un paciente que tiene una infección microbiana y/o una infección crónica. Las 25 infecciones ilustrativas incluyen, pero no se limitan a, VIH/SIDA, tuberculosis, osteomielitis, hepatitis B, hepatitis C, virus de Epstein-Barr o parvovirus, virus de la leucemia de células T, síndrome de sobrecrecimiento bacteriano, infecciones fúngicas o parasitarias.

En diversas realizaciones, las presentes composiciones se usan para tratar o prevenir una o más enfermedades 30 o afecciones inflamatorias, tales como inflamación, inflamación aguda, inflamación crónica, enfermedad respiratoria, aterosclerosis, reestenosis, asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica, shock séptico, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad inflamatoria pélvica, dolor, enfermedad inflamatoria ocular, enfermedad celíaca, síndrome de Leigh, deficiencia de glicerol quinasa, eosinofilia familiar (EF), ataxia espástica autosómica recesiva, enfermedad inflamatoria laríngea; Tuberculosis, colecistitis crónica, bronquiectasias, silicosis y otras neumoconiosis.

En diversas realizaciones, las presentes composiciones se usan para tratar o prevenir una o más enfermedades 35 o afecciones autoinmunes, tales como esclerosis múltiple, diabetes mellitus, lupus, enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome de Guillain-Barré, esclerodermias, síndrome de Goodpasture, granulomatosis de Wegener, epilepsia autoinmune, encefalitis de Rasmussen, esclerosis biliar primaria, colangitis esclerosante, hepatitis autoinmune, enfermedad de Addison, tiroiditis de Hashimoto, fibromialgia, 40 síndrome de Menier; rechazo de trasplantes (*por ejemplo*, prevención del rechazo de aloinjertos) anemia perniciosa, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, dermatomiositis, síndrome de Sjogren, lupus eritematoso, esclerosis múltiple, miastenia gravis, síndrome de Reiter, enfermedad de Grave y otras enfermedades autoinmunes.

Kits

La invención también proporciona kits para la administración de cualquier agente descrito en el presente documento (*por ejemplo*, la proteína químérica con o sin diversos agentes terapéuticos adicionales). El kit es 50 un conjunto de materiales o componentes que incluye al menos aproximadamente de las composiciones farmacéuticas inventivas descritas en el presente documento. El kit contiene al menos aproximadamente de las composiciones farmacéuticas de la invención.

La naturaleza exacta de los componentes configurados en el kit depende de su finalidad prevista. En una 55 realización, el kit está configurado para el tratamiento de sujetos humanos.

Las instrucciones de uso pueden estar incluidas en el kit. Las instrucciones de uso suelen incluir una expresión tangible que describe la técnica que debe emplearse al utilizar los componentes del kit para obtener un resultado deseado, tal como el tratamiento del cáncer. Opcionalmente, el kit también contiene otros componentes útiles, tales como diluyentes, tampones, portadores farmacéuticamente aceptables, jeringas, catéteres, aplicadores, herramientas de pipeteo o medición, materiales de vendaje u otra parafernalia útil que reconocerán fácilmente los expertos en la técnica.

Los materiales y componentes ensamblados en el kit pueden proporcionarse al practicante almacenados en 65 cualquier conveniencia y formas adecuadas que preserven su operatividad y utilidad. Por ejemplo, los componentes pueden suministrarse a temperatura ambiente, refrigerados o congelados. Los componentes

suelen estar contenidos en materiales de envasado adecuados. En diversas realizaciones, el material de envasado se construye mediante procedimientos bien conocidos, preferiblemente para proporcionar un entorno estéril y libre de contaminantes. El material de envasado puede llevar una etiqueta externa que indique el contenido y/o la finalidad del kit y/o sus componentes.

5

Definiciones

Como se usa en el presente documento, "un", "una" o "el" puede significar uno o más de uno.

10 Además, el término "aproximadamente" cuando se utiliza en relación con una indicación numérica referenciada significa la indicación numérica referenciada más o menos hasta 10% de esa indicación numérica referenciada. Por ejemplo, la expresión "aproximadamente 50" abarca la franja de 45 a 55 años.

15 Una "cantidad eficaz", cuando se utiliza en relación con usos médicos, es una cantidad que es eficaz para proporcionar un tratamiento mensurable, prevención o reducción de la tasa de patogénesis de una enfermedad de interés.

20 Como se usa en el presente documento, algo está "disminuido" si una lectura de actividad y/o efecto se reduce en una cantidad significativa, tal como en al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, o más, hasta e incluyendo al menos aproximadamente 100%, en presencia de un agente o estímulo relativo a la ausencia de tal modulación. Como comprenderá un experto en la técnica, en 25 algunas realizaciones, la actividad disminuye y algunas lecturas posteriores disminuirán, pero otras pueden aumentar.

30 Por el contrario, la actividad se "incrementa" si una lectura de actividad y/o efecto se incrementa en una cantidad significativa, por ejemplo en al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, o más, hasta e incluyendo al menos aproximadamente el 100% o más, al menos aproximadamente 2 veces, al menos aproximadamente 3 veces, al menos aproximadamente 4 veces, al menos 35 aproximadamente 5 veces, al menos aproximadamente 6 veces, al menos aproximadamente 7 veces, al menos aproximadamente 8 veces, al menos aproximadamente 9 veces, al menos aproximadamente 10 veces, al menos aproximadamente 50 veces, al menos aproximadamente 100 veces, en presencia de un agente o estímulo, en relación con la ausencia de dicho agente o estímulo.

40 Como se menciona en el presente documento, todos los porcentajes de composición son en peso de la composición total, a menos que se especifique lo contrario. Tal y como se utiliza en el presente documento, la palabra "incluir", y sus variantes, pretende ser no limitativa, de modo que la enumeración de elementos en una lista no excluye otros elementos similares que también pueden ser útiles en las composiciones y procedimientos de esta tecnología. Del mismo modo, los términos "puede" y "puede" y sus variantes pretenden ser no limitativos, de modo que la recitación de que una realización puede o puede comprender ciertos elementos o características no excluye otras realizaciones de la presente tecnología que no contengan dichos elementos o características.

50 Aunque el término abierto "que comprende", como sinónimo de términos tales como incluyendo, contenido o teniendo, se utiliza en el presente documento para describir y reivindicar la invención, la presente invención, o realizaciones de la misma, pueden describirse alternativamente utilizando términos alternativos tales como "que consiste en" o "que consiste esencialmente en".

55 Tal como se utilizan en el presente documento, las palabras "preferido" y "preferiblemente" se refieren a realizaciones de la tecnología que ofrecen ciertas ventajas, en determinadas circunstancias. Sin embargo, también pueden preferirse otras formas de realización, en las mismas circunstancias o en otras. Además, la mención de una o más realizaciones preferidas no implica que otras realizaciones no sean útiles, y no pretende excluir otras realizaciones del alcance de la tecnología.

60 La cantidad de composiciones descritas en el presente documento necesaria para lograr un efecto terapéutico puede determinarse empíricamente de acuerdo con los procedimientos convencionales para el propósito particular. Generalmente, para administrar agentes terapéuticos con fines terapéuticos, los agentes terapéuticos se administran a una dosis farmacológicamente eficaz. Una "cantidad farmacológicamente eficaz", "dosis farmacológicamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad suficiente para producir el efecto fisiológico deseado o una cantidad capaz de lograr el resultado deseado, en particular para tratar el trastorno o la enfermedad. Una cantidad eficaz, tal como se utiliza en el

presente documento, incluiría una cantidad suficiente para, por ejemplo, retrasar el desarrollo de un síntoma del trastorno o enfermedad, alterar el curso de un síntoma del trastorno o enfermedad (*por ejemplo*, ralentizar la progresión de un síntoma de la enfermedad), reducir o eliminar uno o más síntomas o manifestaciones del trastorno o enfermedad, y revertir un síntoma de un trastorno o enfermedad. El beneficio terapéutico también incluye detener o ralentizar la progresión de la enfermedad o trastorno subyacente, independientemente de que se produzca una mejoría.

Las cantidades eficaces, la toxicidad y la eficacia terapéutica pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, *por ejemplo*, para determinar la LD50 (la dosis letal para aproximadamente el 50% de la población) y la ED50 (la dosis terapéuticamente eficaz en aproximadamente el 50% de la población). La dosis puede variar en función de la forma farmacéutica empleada y de la vía de administración utilizada. La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD50/ED50. En algunas realizaciones, se prefieren composiciones y procedimientos que presenten grandes índices terapéuticos. Una dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos *in vitro*, incluyendo, por ejemplo, ensayos de cultivo celular. Asimismo, puede formularse una dosis en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentración plasmática circulante que incluya el IC50 determinado en cultivo celular, o en un modelo animal apropiado. Los niveles de las composiciones descritas en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alta resolución. Los efectos de cualquier dosis concreta pueden controlarse mediante un bioensayo adecuado. La dosis puede ser determinada por un médico y ajustada, según sea necesario, para adaptarse a los efectos observados del tratamiento.

En ciertas realizaciones, el efecto resultará en un cambio cuantificable de al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 70% o al menos aproximadamente 90%. En algunas realizaciones, el efecto se traducirá en un cambio cuantificable de aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 50%, aproximadamente 70%, o incluso aproximadamente 90% o más. El beneficio terapéutico también incluye detener o ralentizar la progresión de la enfermedad o trastorno subyacente, independientemente de que se produzca una mejoría.

Tal como se utiliza en el presente documento, los "procedimientos de tratamiento" son igualmente aplicables al uso de una composición para tratar las enfermedades o trastornos descritos en el presente documento y/o composiciones para uso y/o usos en la fabricación de un medicamento para tratar las enfermedades o trastornos descritos en el presente documento. La presente invención se ilustra además mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

EJEMPLOS

En los siguientes ejemplos, a menos que se indique, las mutaciones a IFN son relativas a IFN- α 2 humano - SEQ ID NO: 179.

El mutante Q124R es representativo de un mutante atenuado de IFN alfa 2 humano que puede ensayarse *in vivo* en un modelo murino. En concreto, Q124R es una mutación del IFN humano que es adecuada para su uso en el ratón (es decir, es un IFN mutante humano que funciona en el ratón). Véase Nat. Comm. 2014;5:3016. doi: 10.1038/ncomms4016.

El VHH PD-1 antihumano utilizado en estos Ejemplos es SEQ ID NO: 23.

El VHH PD-L1 antihumano utilizado en estos Ejemplos es SEQ ID NO: 158.

Ejemplo 1: Caracterización de la quimera anti-ratón PD-L1/IFN humano atenuado

La FIG. 1 muestra las actividades antitumorales de un constructo quimera anti-PD-L1-humano IFN Q124R en comparación con anti-PD-L1 VHH y PBS. En el experimento, se inocularon ratones C57BL/6 por vía subcutánea (50 μ l) con 6×10^5 células tumorales de melanoma B16mCD20cl1 (una línea celular de melanoma de ratón). El tratamiento perilesional con 30 μ g de diversos constructos (100 μ l) se inició cuando los tumores alcanzaron un tamaño de ± 10 mm² medido con calibrador. La FIG. 1 muestra que el anti-PD-L1 tuvo un efecto mínimo en el modelo de tumor B16, mientras que la quimera anti-PD-L1-IFN humano Q124R mostró actividad antitumoral y redujo el tamaño del tumor.

La quimera anti-PD-L1-IFN humano Q124R también demostró ser segura(FIG. 2). En cada figura, los paneles A-G muestran: cambio en el peso corporal de los ratones en los estudios tumorales descritos anteriormente (panel A), recuento de glóbulos blancos ("wbc") y recuento de linfocitos ("ly") (panel B), recuento de neutrófilos ("ne") y recuento de monocitos ("mo") (panel C); recuento de glóbulos rojos ("rbc") y, para FIG. 4, hemoglobina ("hb") (panel D); hemocrito ("hct"), volumen corpuscular medio ("mcv"), hemoglobina corpuscular media ("mch"), concentración corpuscular media de hemoglobina ("mchc") (panel E); hematies picados ("pit") (panel F); y

volumen plaquetario medio ("mpv") (panel G). Es importante destacar que la quimera anti-PD-L1-IFN humano Q124R mostró parámetros de seguridad muy superiores a los que se esperaban de los interferones de tipo silvestre.

5 **Ejemplo 2: Caracterización de VHHS anti-PD1 y PD-L1 humanos**

PD-1 (proteína de muerte celular programada 1) funciona como un punto de control inmunitario y desempeña un papel importante en la regulación descendente del sistema inmunitario al impedir la activación de las células T mediante la unión a sus ligandos PD-L1 (ligando de muerte programada 1) y PD-L2. Se estableció un ensayo de unión a placa para evaluar el efecto de los VHH de PD-1 y PD-L1 en la interacción entre estas dos proteínas.

10 Específicamente, las placas maxisorb se recubrieron durante la noche con Ab anti-FLAG (Sigma; 2 µg/ml en PBS), se lavaron con tampón de lavado (PBS + 0,05% Tween-20) y se bloquearon con PBS + 5% Tween-20 (2 horas a temperatura ambiente). El medio condicionado que contenía el dominio extracelular hPD-L1 marcado 15 con FLAG se incubó durante dos horas a temperatura ambiente. El exceso de proteína no unida se lavó con tampón de lavado. hPD1-Fc (500 ng/ml; R&D systems; cat: 1086-PD) en presencia o ausencia de VHHS se dejó ligar durante 2 horas a temperatura ambiente. El hPD1-Fc unido se cuantificó con un AB secundario antihumano acoplado a peroxidasa de rábano picante (HRP) y el sustrato TMB HRP (KPL).

20 En este experimento, se permitió que hPD-1-Fc se uniera a hPD-L1 inmovilizado en presencia de una dilución en serie (1000 ng/ml; 1 sobre 10) de VHHS específicos para hPD-1, hDP-L1, mPD-L1 o un blanco irrelevante. Los datos ilustran claramente que tanto hPD-1 como hPD-L1 VHHS bloquearon la interacción PD-1/PD-L1, mientras que no se observó ningún efecto para mPD-L1 o VHHS irrelevantes. Ver FIG. 3.

25 **Ejemplo 3: PD-L1 antihumano dirigido a quimeras de IFN**

La eficacia de la quimera de PD-L1 humano (ligando de muerte programada 1)/IFN atenuado ("AcTaferon") se examinó mediante la cuantificación de la fosforilación de STAT1 en la línea celular MDA-MB-321 positiva para PD-L1 humano mediante análisis FACS.

30 Específicamente, las células MDA-MB-321 se estimularon con quimeras anti-PD-L1 humana/IFN atenuado como se indica durante 15 minutos a 37°C en medio DMEM suplementado con 10% FBS. Tras la estimulación, las células se fijaron añadiendo 1 volumen de Fix Buffer I (BD Biosciences) durante 10 minutos a 37°C, y se permeabilizaron resuspendiéndolas en 2 volúmenes de Perm III Buffer I (BD Biosciences) durante 30 minutos en hielo. Las muestras se tiñeron con un Ab anti-STAT1 pY701 (BD Biosciences) durante 20 minutos a 4°C y se analizaron con un FACSCalibur (BD Biosciences) y el software Cell Quest Pro Versión 4.0.2 (BD Biosciences).

40 En este experimento, las células MDA-MB-321 se estimularon con una dilución en serie (100 ng/ml; 1 sobre 5) de quimeras anti-PD-L1 humano/IFN atenuado durante 15 minutos a 37°C. Tras la fijación y permeabilización, las células se tiñeron para fosfo STAT1 y se analizaron en FACS. Los datos ilustran claramente que la focalización en PD-L1 de las quimeras de IFN anti-humano PD-L1/atenuado aumentó fuertemente la fosforilación STAT1 de las quimeras de IFN anti-humano PD-L1/atenuado R149A, pero no de las quimeras de IFN anti-humano PD-L1/atenuado R33A/E120R. La quimera no dirigida (BclI10 VHH) fue incapaz de señalar incluso a 100 ng/ml. Ver FIG. 4.

45 **Ejemplo 4: Inducción de señalización en células dendríticas humanas con quimeras VHH anti PD-L1 humanas**

50 Se realizó un ensayo de señalización pSTAT de células dendríticas. Las quimeras estudiadas fueron anti PD-L1 humano VHH/IFN humano R149A y anti PD-L1 humano VHH/IFN humano R33A/E120R. Se estudiaron dos dosis de los agentes: 100 ng/ml y 500 ng/ml.

55 Brevemente, se aislaron PBMC humanas de sangre obtenida de donantes sanos. Se trajeron aproximadamente 120 ml de sangre de cada donante utilizando tubos recubiertos de heparina (12 tubos). La sangre se mantuvo a temperatura ambiente y se procesó inmediatamente. Brevemente, la sangre se diluyó 1:1 con DPBS y 25 ml se colocaron suavemente en capas sobre 15 ml de Lympholyte H. Tras centrifugación, se recogieron los anillos de células mononucleares y las células se lavaron tres veces con DPBS (PBS Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Wisent, catálogo nº 311-425-LL) y se contaron. Las células dendríticas se enriquecieron a partir de la población de PBMC utilizando un "kit de enriquecimiento de DC" que contenía una combinación de anticuerpos monoclonales específicos del linaje en PBS y una suspensión de partículas magnéticas (STEMCELL Technologies, número de catálogo 19251), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

60 Se estimularon células dendríticas (DC) durante 15 minutos en presencia o ausencia de los elementos de prueba y controles (PBS) y se determinó el nivel de STAT1 fosforilada (pSTAT1, específicamente pY701-STAT1)

en poblaciones aisladas de células DC (Lin-(CD14/CD16/CD20/CD56/CD3)/HLA-DR+) mediante citometría de flujo. Tras la estimulación, se fijaron las células (tampón de fijación BD Cytofix, BD Bioscience, catálogo nº 554655) y, a continuación, se permeabilizaron con tampón Perm II (tampón Perm BD PhosFlow, BD Bioscience, catálogo nº 558052). A continuación, se tiñeron las células para detectar fosfoSTAT1 y marcadores de superficie de DC (Lin-/HLA-DR+) (véase la tabla siguiente). Tanto la tinción intracelular como la de superficie se realizaron al mismo tiempo. La citometría de flujo y la adquisición de datos se realizaron tras el lavado celular con DPBS.

5 Tabla con la lista de anticuerpos para la tinción por citometría de flujo

Marcador/Nombre del producto	Fluorocromo	Clon	Propósito	Proveedor-Número de catálogo
pSTAT1	AlexaFluor647	4a	fosfo- STAT1	BD-562070
Anti-CD3 humano	PE	UCHT1	Marcador de células T Agotamiento del linaje	BD-561809
Anti-CD14 humano	PE	M5E2	Marcadores de monocitos Reducción del linaje	BD-555398
anti-CD16 humano	PE	B73.1	NK, Neutrófilos, Marcador de monocitos Eliminación de linajes	BD-561313
anti-CD19 humano	PE	HIB19	Marcador de linaje de células B	BD-555413
anti-CD56 humano	PE	8159	Marcador de células NK Reducción del linaje	BD-555516
Anti-HLA-DR humano	FITC	TU36	Marcador MHC II Discriminación de DC	BD-555560
Anti-CD11c humano	BV421	B-Ly6	Discriminación DC	BD-562561
LIVE/DEAD Tinte Aqua Fijador de Células Muertas	Aqua	N/Ap	Tinte de viabilidad	ThermoFisher-L34957
IgG normal de ratón	N/Ap	N/Ap	Bloqueante del receptor Fc Agente bloqueante	ThermoFisher-10400C

10 La FIG. 5 muestra los datos, expresados como cambio de pliegue del porcentaje de células dendríticas pSTAT+.

Este estudio muestra claramente que un constructo dirigido al antígeno PD-L1 humano que comprende un agente de señalización de IFN cuya actividad es recuperable al dirigir la célula (IFN R149A) promueve la señalización de IFN en células dendríticas humanas (según lo determinado por la inducción de pSTAT1). Por el contrario, no se observa activación de la señalización de IFN con un constructo dirigido a PD-L1 que incorpora un agente de señalización de IFN cuya actividad no es recuperable (IFN R33A/E120R). Por lo tanto, al igual que se observó en el caso de constructos de fusión de IFN comparables dirigidas a PD-L1 de ratón, la orientación de IFN a células dendríticas humanas utilizando una fracción de orientación dirigida al antígeno PD-L1 humano desencadena una transducción de señal de IFN pronunciada.

REIVINDICACIONES

1. Una proteína químérica que comprende:

5 (a) una fracción objetivo, comprendiendo dicha fracción objetivo un dominio de reconocimiento que se une específicamente al ligando 1 de la proteína de muerte celular programada (PD-L1), en el que el dominio de reconocimiento comprende un anticuerpo de longitud completa, un anticuerpo de dominio único, un anticuerpo recombinante de cadena pesada (VHH), un anticuerpo de cadena única (scFv), un anticuerpo de tiburón de cadena pesada (VNAR), un Fv, un Fab, un Fab', un F(ab')₂; y
10 (b) un agente de señalización modificado, en el que el agente de señalización modificado es un interferón alfa 2 humano (IFNa2) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 98% de identidad con una secuencia seleccionada de SEQ ID NO: 179 o 180 y que tiene una o más mutaciones en las posiciones 144-154; en el que el IFNa2 humano mutado tiene una afinidad o actividad reducida en comparación con el IFNa2 humano de tipo silvestre, y en el que la afinidad o actividad reducida del IFNa2 humano mutado es restaurable por unión a la fracción objetivo.

15 2. La proteína químérica de la reivindicación 1, en la que el dominio de reconocimiento comprende un anticuerpo de dominio único (VHH).

20 3. La proteína químérica de la reivindicación 1 o 2, en la que el dominio de reconocimiento comprende un V_{HH}, o V_{HH} humanizado.

4. La proteína químérica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la posición de la mutación es una o más de M148, R149 y L153.

25 5. La proteína químérica de la reivindicación 4, en la que la mutación es una o más de R149A, M148A y L153A.

6. Una proteína químérica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en el tratamiento del cáncer, opcionalmente en el que el cáncer se selecciona entre uno de un carcinoma, un sarcoma, una leucemia, linfomas, un mieloma, un cáncer del sistema nervioso central, un meningioma, un adenoma hipofisario, un neuroma y un tumor de la médula espinal.

30 7. La proteína químérica de la reivindicación 5, en la que la mutación es R149A.

35 8. La proteína químérica de la reivindicación 5, en la que la mutación es L153A.

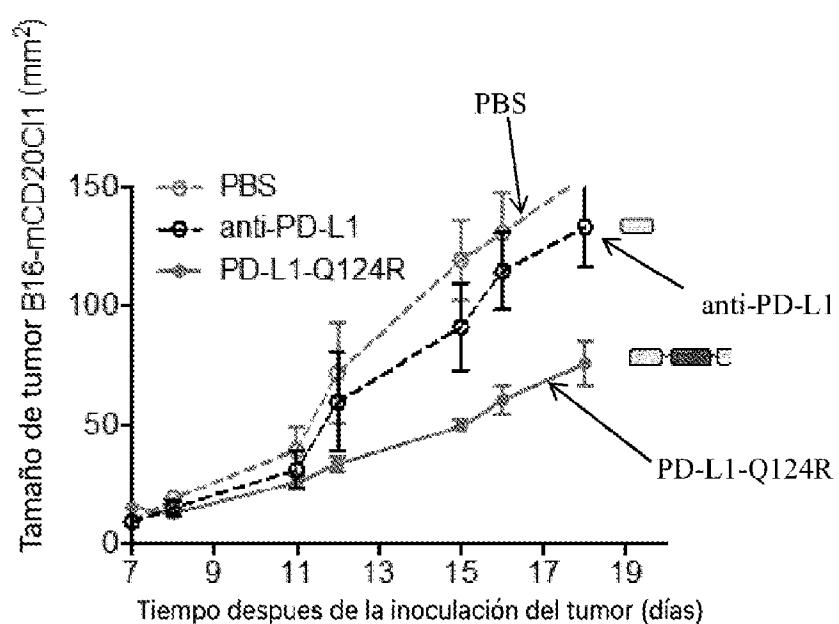
9. La proteína químérica de la reivindicación 5, en la que la mutación es M148A.

40 10. La proteína químérica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 7-9 o una proteína químérica de acuerdo con la reivindicación 6 para el uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que la proteína químérica comprende una o más fracciones objetivo adicionales.

11. Una composición farmacéutica, que comprende la proteína químérica de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, y un excipiente o portador farmacéuticamente aceptable.

ES 2 981 730 T3

FIG. 1



1 exp, 6 ratones

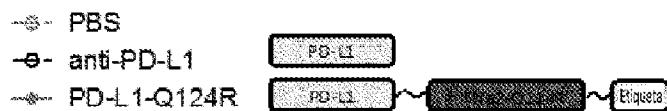
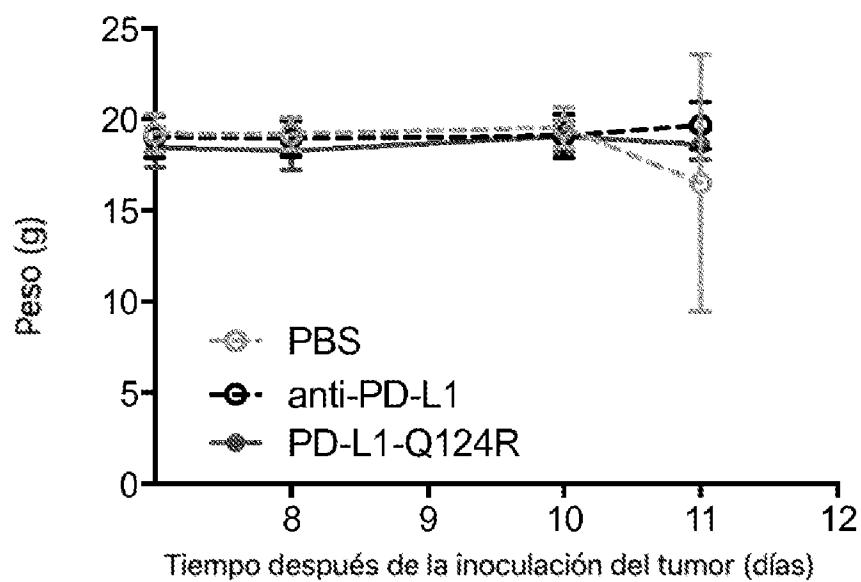


FIG. 2

A.



B.

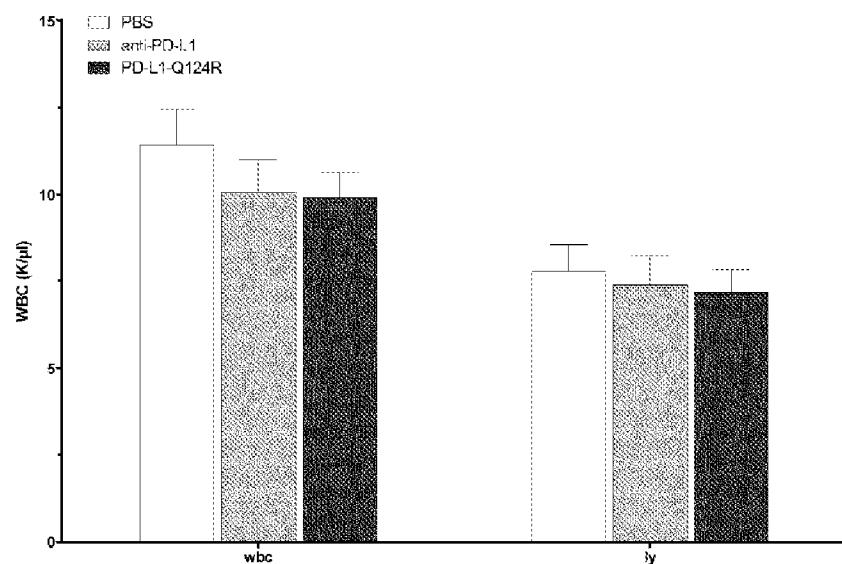
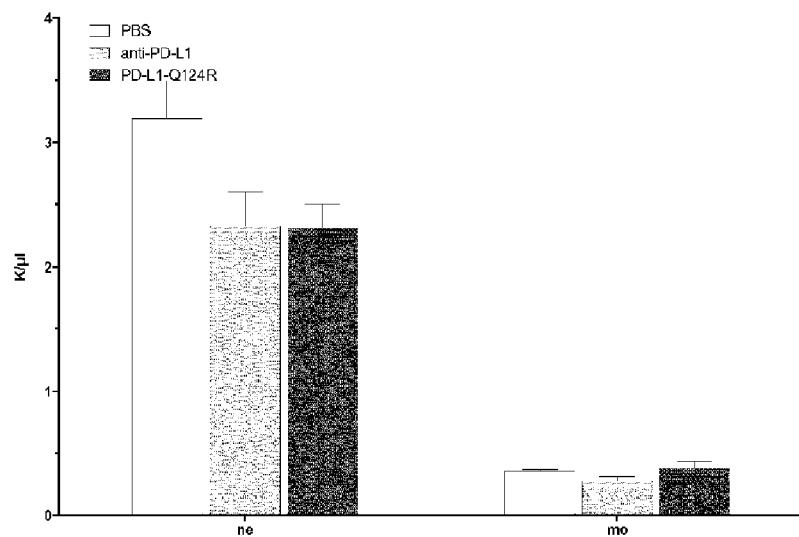


FIG. 2 (CONT.)
C.



D.

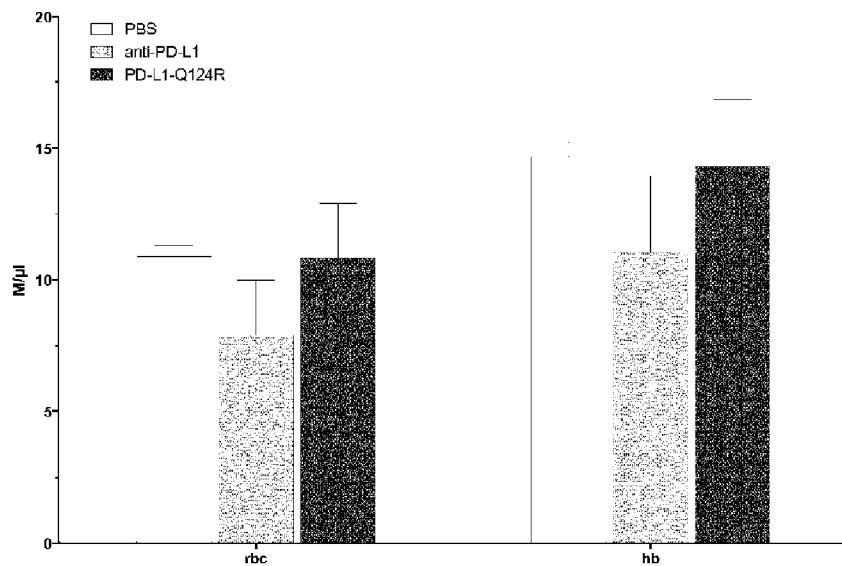
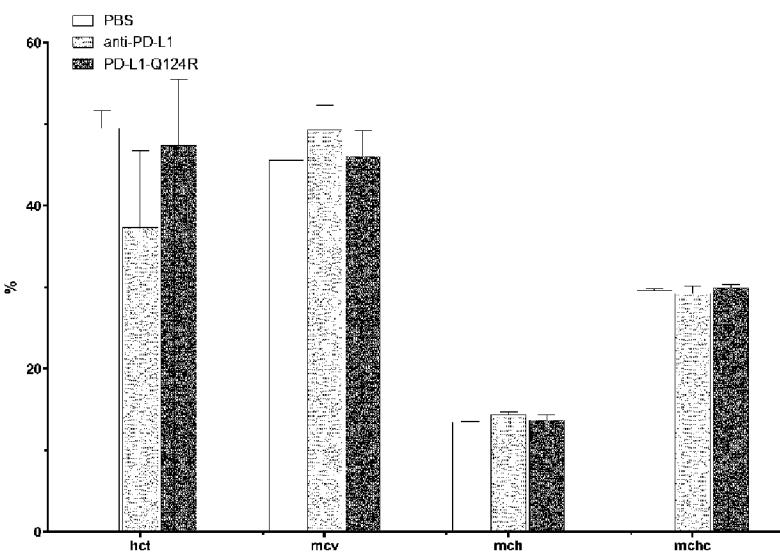
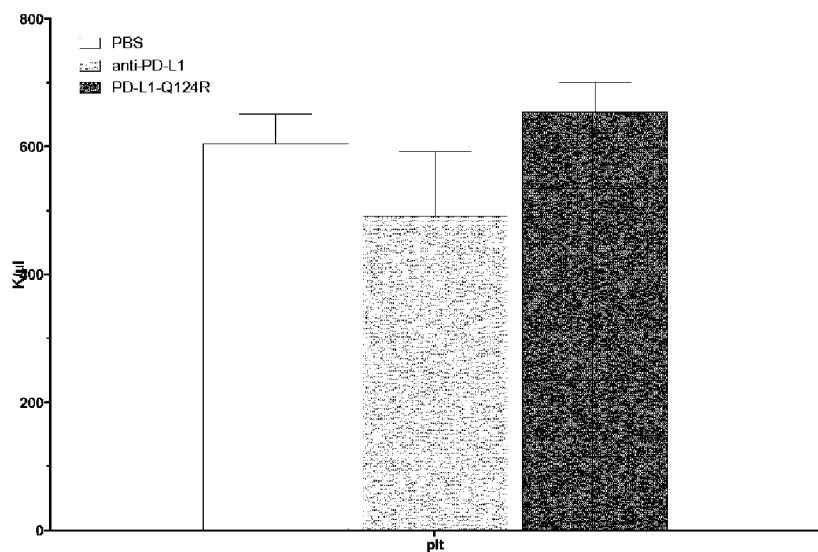


FIG. 2 (CONT.)
E.



F.



ES 2 981 730 T3

FIG. 2 (CONT.)

G.

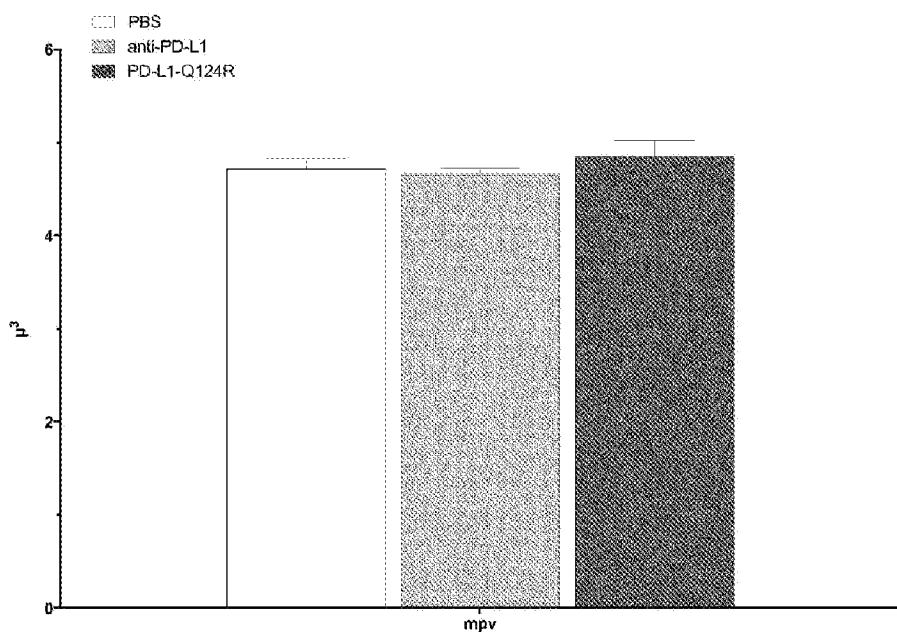
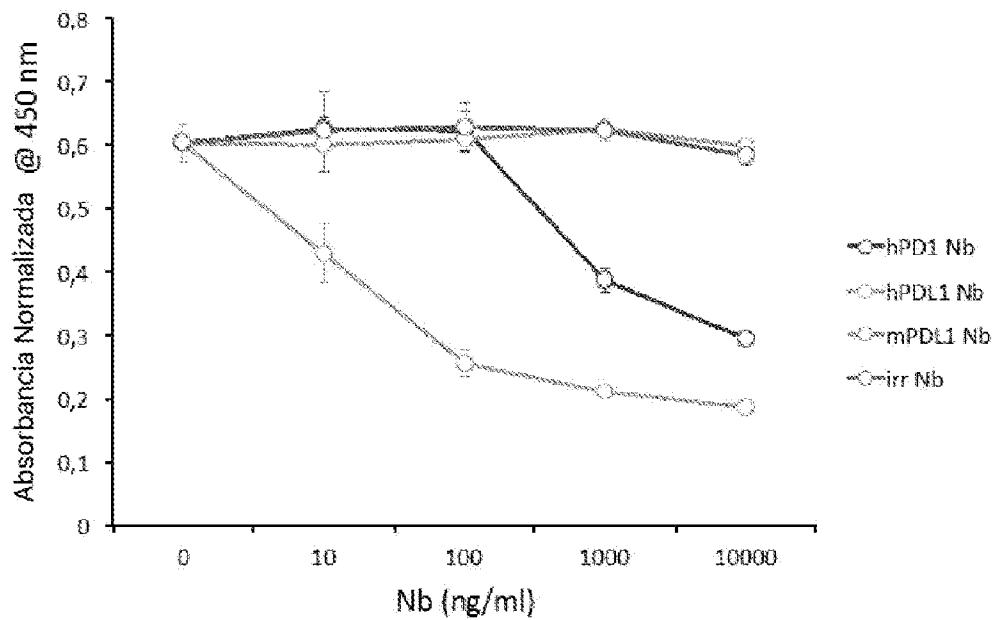


FIG. 3



ES 2 981 730 T3

FIG. 4

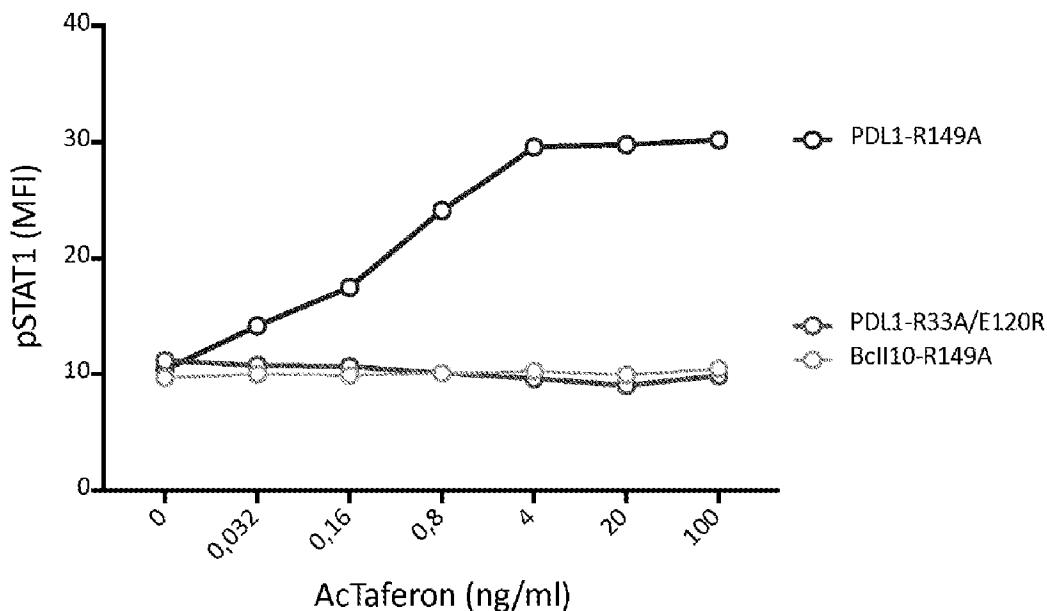


FIG. 5

