

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 029 416**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/6883 (2008.01)

C12Q 1/6886 (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.03.2022 PCT/GB2022/050561**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.09.2022 WO22185062**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2022 E 22709783 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.04.2025 EP 4301874**

54 Título: **Marcadores de interacción cromosómica**

30 Prioridad:

04.03.2021 US 202163156659 P
23.11.2021 US 202163282284 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.06.2025

73 Titular/es:

OXFORD BIODYNAMICS PLC (100.00%)
Building 3140, Oxford Business Park
Oxford, OX4 2WB, GB

72 Inventor/es:

RAMADASS, AROUL SELVAM;
HUNTER, EWAN y
AKOULITCHEV, ALEXANDRE

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 3 029 416 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

Marcadores de interacción cromosómica

5 Campo de la invención

La invención se refiere a la inmunoterapia.

Antecedentes de la invención

10

El cáncer constituye una importante carga de enfermedad en todo el mundo. Cada año, a decenas de millones de personas en todo el mundo se les diagnostica cáncer y más de la mitad de los pacientes finalmente mueren a causa de esta enfermedad. En muchos países, el cáncer ocupa la segunda causa más común de muerte, después de las enfermedades cardiovasculares. Con una mejora significativa en el tratamiento y la prevención de las enfermedades cardiovasculares, el cáncer se ha convertido o pronto se convertirá en la principal causa de muerte en muchas partes del mundo. Como las personas mayores son más susceptibles al cáncer y el envejecimiento de la población continúa en muchos países, el cáncer seguirá siendo un importante problema de salud en todo el mundo.

15

20

Si bien el propósito principal del sistema inmunológico es combatir infecciones causadas por agentes externos extraños como los patógenos, también tiene la importante función de atacar y eliminar las células cancerosas. La inmunoterapia contra el cáncer generalmente funciona ayudando al sistema inmunitario de alguna manera a combatir las células cancerosas.

25

El documento WO2019/086898 divulga un proceso para analizar regiones cromosómicas e interacciones relacionadas con la inmunorrespuesta.

Wang et al., 2020, vol 19, no. 1, 2 de mayo de 2020 'The biomarkers of hyperprogressive disease in PD-1/PD-L1 blockage therapy' revelan que los inhibidores de los puntos de control inmunitarios, como los anticuerpos PD-1/PD-L1 y los anticuerpos contra el antígeno 4 de los linfocitos T citotóxicos, son eficaces para pacientes con diversos tipos de cáncer.

30

Sumario de la invención

35

Los inventores han identificado firmas de conformación cromosómica que definen estados del sistema inmunológico que son relevantes para la terapia del cáncer. Esto aclara el papel de esta modalidad en la regulación del sistema inmunológico y permite una "lectura" de cómo responderá el sistema inmunológico de un paciente a la inmunoterapia. También ha permitido identificar ciertos tipos de población respondedora para los cuales la inmunoterapia no es apropiada y, de hecho, puede ser muy dañina. Este análisis a nivel de la arquitectura 3D del genoma definida por las interacciones cromosómicas ofrece lecturas muy tempranas de la respuesta del paciente a la inmunoterapia, permitiendo tomar decisiones en etapas tempranas de la enfermedad en cuanto a las terapias más apropiadas. Según la invención, se ha comprobado que la detección de las interacciones cromosómicas relevantes es sólida y funciona en diferentes inmunoterapias y tipos de cáncer.

40

45

Los marcadores identificados son consistentes con desregulaciones en células T, células NK (asesinas naturales), macrófagos, células B y células dendríticas (DC) mostrando el papel jugado por la configuración específica a nivel celular del sistema inmune adaptativo e innato en pacientes individuales como parte de la interacción cáncer-huésped que define la progresión de la enfermedad (hiperprogresores) y la capacidad de respuesta a la inmunoterapia.

50

Por consiguiente, la invención proporciona un método para determinar cómo responde un individuo a la inmunoterapia para el cáncer que comprende detectar la presencia o ausencia en el individuo de:

55

– todas las interacciones cromosómicas representadas por las secuencias de sonda que se muestran en la Tabla 8c para determinar así si el individuo responderá a la inmunoterapia; y/o

60

– todas las interacciones cromosómicas representadas por la secuencia de sonda que se muestra en la Tabla 2.a3 para determinar así si el individuo es un hiperprogresor en quien la inmunoterapia acelerará la enfermedad.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un método preferido para tipificar interacciones cromosómicas, basado esencialmente en el método EpiSwitch.

65

La figura 2 muestra el perfil predictivo y pronóstico basal del paciente y muestra datos de respuesta a PD-L1

ES 3 029 416 T3

- (Avelumab en cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) de segunda línea (2L). Para el gráfico superior de cada una de las figuras 2a, 2b y 2c, el eje vertical muestra la probabilidad de supervivencia de 0,00 a 1,00 y el eje horizontal muestra el tiempo de 0 a 1200, siendo los valores p para las líneas de puntos <0,0001, 0,76 y <0,0001 en las figuras 2a, 2b y 2c respectivamente. La tabla inferior de cada figura muestra el número de personas en riesgo correspondiente a cada línea de los gráficos a lo largo del tiempo de 0 a 1200.
- 5
- La figura 3 se relaciona con la validación de los marcadores de respuesta anti-PD-L1 de EpiSwitch en una cohorte independiente de 21 pacientes en distintos tipos de cáncer y terapias con inhibidores de puntos de control.
- 10
- La figura 4 muestra la alta concordancia entre las llamadas basales de EpiSwitch, la expresión de PD-L1 y la respuesta clínica observada.
- La figura 5 muestra datos de un conjunto de entrenamiento para un modelo de 11 marcadores basado en 80 pacientes con NSCLC que son una mezcla de 1L, 2L de avelumab (54) y 2L de Pembrolizumab (36).
- 15
- La figura 6 muestra datos para un conjunto de prueba del modelo de 11 marcadores basado en 38 pacientes con NSCLC que son una mezcla de 1L, 2L de avelumab (27) y 2L de Pembrolizumab (11).
- 20
- Las figuras 7 y 8 muestran datos de un segundo conjunto de pruebas para el Estudio observacional de Malasia que analiza una combinación de inhibidores de puntos de control y tumores.
- La figura 9 muestra llamadas longitudinales en muestras asiáticas ciegas.
- 25
- La figura 10 muestra las llamadas de EpiSwitch reales para los pacientes muestreados en múltiples puntos de tiempo.
- Las figuras 11 y 12 muestran la selección de muestras y los detalles de los pacientes para el trabajo relacionado con los hiperprogresores.
- 30
- La figura 13 muestra la selección del marcador de conformación cromosómica EpiSwitch con las ubicaciones genéticas asociadas.
- Las figuras 14 y 15 muestran el análisis de las vías de localización genética.
- 35
- La figura 16 muestra el conjunto de entrenamiento para hiperprogresores.
- La figura 17 muestra el conjunto de pruebas para hiperprogresores.
- 40
- La figura 18 muestra el PCA logístico (análisis de componentes principales) del conjunto de entrenamiento para hiperprogresores. Los cuadrados muestran H y los círculos muestran S.
- La figura 19 muestra el PCA logístico del conjunto de entrenamiento con muestras de prueba previstas para hiperprogresores. Los cuadrados muestran H y los círculos oscuros muestran S.
- 45
- La figura 20 muestra el PCA logístico del conjunto de entrenamiento con PFS como etiqueta para los hiperprogresores. Los cuadrados muestran H y los círculos muestran S.
- La Figura 21 muestra el ACP logístico del conjunto de entrenamiento con OS como etiqueta para los hiperprogresores. Los cuadrados muestran H y los círculos muestran S.
- 50
- La figura 22 muestra una matriz de confusión y estadísticas. El modelo de entrenamiento es de 78 pacientes. 30 fueron NR (no respondedores). 39 fueron R (respondedores). 9 fueron SD (enfermedad estable).
- 55
- La figura 23 muestra una matriz de confusión y estadísticas. El conjunto de prueba está formado por 24 pacientes. 8 eran NR, 12 eran R y 4 eran SD.
- La figura 24 muestra una matriz de confusión y estadísticas. El conjunto de prueba son 128 pacientes.
- 60
- La figura 25 muestra la importancia de la variable global para diferentes marcadores. De arriba a abajo se muestran los resultados para (i) obd189_q65-q67_p65, (ii) obd189_q53_q55_p53, (iii) obd189_q81_q83_p81, (iv) obd148_q893_q895_p893, (v) obd189_q49_q51_p49, (vi) obd189_q29_q31_p31, (vii) obd189_q57_q59_p57, (viii) obd189_q05_q07_p05. El eje horizontal muestra las características del modelo superior. El eje vertical muestra valores que van de 0 a 20.
- 65
- La figura 26 muestra las ubicaciones genéticas de los marcadores.

La figura 27 muestra las vías asociadas con los genes de la figura 26.

Descripción de las Tablas

5 La Tabla 1 muestra el conjunto de marcadores universales y cómo cada marcador se relaciona con la respuesta (R) o la falta de respuesta (NR) a la inmunoterapia.

La Tabla 2 muestra el conjunto de marcadores para la detección de hiperprogresores y cómo cada marcador se relaciona con la hiperprogresión (HS) o la estabilidad (S).

10 La Tabla 3 muestra las moléculas de puntos de control inmunitario que pueden ser atacadas y/o moduladas por la inmunoterapia.

15 Las Tablas 4 a 6 proporcionan ejemplos de inmunoterapias contra el cáncer para las que se puede determinar el estado de respuesta y también son las terapias que se pueden administrar al individuo en función del resultado de la determinación del estado de respuesta de acuerdo con la invención. Estas tablas también muestran los cánceres preferidos.

20 En la Tabla 7 se muestran los marcadores relevantes para las pruebas realizadas en el Ejemplo 2 para desarrollar el conjunto de marcadores que se muestra en la Tabla 8.

La Tabla 8 muestra el conjunto de marcadores universales y cómo cada marcador se relaciona con la respuesta (R) o la falta de respuesta (NR) a la inmunoterapia.

25 La Tabla 9 proporciona datos de pacientes para el Ejemplo 2. Los pacientes que se muestran con un asterisco (*) fueron estudiados en la segunda pantalla descrita en el Ejemplo 2.

Descripción detallada de la invención

30 *Términos utilizados en el presente documento*

El método de la invención puede denominarse en el presente documento el "proceso" de la invención.

35 Las interacciones cromosómicas que se tipifican pueden denominarse en el presente documento "marcadores", "CCS", "firma de conformación cromosómica", "interacción epigenética" o "marcadores EpiSwitch".

40 La palabra "tipo" se interpretará según el contexto, pero generalmente se referirá a la detección de si una interacción cromosómica específica está presente o ausente. La tipificación generalmente se realizará mediante la determinación física de si está presente la interacción cromosómica.

La palabra "respondedor" se utiliza para referirse a la respuesta a la inmunoterapia y cubre tanto los aspectos relacionados con la capacidad de respuesta a la inmunoterapia (el conjunto de marcadores universales) como la detección de hiperprogresores. El término "grupo de respuesta" abarca los cuatro grupos diferentes analizados en el presente documento:

- 45
- respondedor a la inmunoterapia
 - no respondedor a la inmunoterapia
 - 50 – hiperprogresor cuando se le administra inmunoterapia
 - enfermedad estable (no hiperprogresora) cuando se administra inmunoterapia.

55 Las interacciones cromosómicas que se tipifican en el método de la invención se definen en las Tablas 2 y 8. Las interacciones cromosómicas que se tipifican en el método de la invención se definen con más detalle en la Tabla 1. Se definen por medio de las secuencias de sonda que detectan el producto ligado elaborado mediante un método EpiSwitch (véase la Figura 1). También se definen por los números de posición de la interacción que están dentro del nombre de la sonda y también se definen por las secuencias de cebadores que permiten la detección de la secuencia ligada.

60 *Las interacciones epigenéticas relevantes para la invención*

65 Las interacciones cromosómicas que se tipifican en la invención son típicamente interacciones entre regiones distales de un cromosoma, siendo dichas interacciones dinámicas y alterándose, formándose o rompiéndose dependiendo del estado de la región del cromosoma. Ese estado reflejará cómo interactúa el sistema inmunológico

con la inmunoterapia administrada y en qué grupo de respuesta se encuentra el individuo.

La interacción cromosómica puede, por ejemplo, reflejar si está siendo transcrita o reprimida. Se ha comprobado que las interacciones cromosómicas específicas de los "grupos" de respondedores, tal como se definen en el presente documento, son estables, por lo que constituyen un medio fiable para medir las diferencias entre grupos (por ejemplo, que reflejen respuestas diferentes a la inmunoterapia).

Las interacciones cromosómicas específicas de los grupos respondedores estarán normalmente presentes antes o en las primeras fases del proceso de una enfermedad, por ejemplo en comparación con otros marcadores epigenéticos como la metilación o los cambios en la unión de las proteínas histonas. De este modo, el procedimiento de la invención es capaz de proporcionar información valiosa sobre el modo en que reaccionará el sistema inmune en una fase temprana. Esto permite una intervención temprana (por ejemplo un tratamiento) que, en consecuencia, será más eficaz y también permite tomar decisiones tempranas sobre el tipo de tratamiento que es apropiado para el paciente y qué tratamientos no se deben utilizar. Las interacciones cromosómicas también reflejan el estado actual del individuo y, por lo tanto, pueden utilizarse para evaluar cambios en el estado de la enfermedad. Además, hay poca variación en las interacciones cromosómicas relevantes entre individuos del mismo grupo.

Las interacciones cromosómicas que se detectan en la invención podrían verse afectadas por cambios en la secuencia de ADN subyacente, por factores ambientales, metilación del ADN, transcritos de ARN antisentido no codificantes, carcinógenos no mutagénicos, modificaciones de las histonas, remodelación de la cromatina e interacciones locales específicas del ADN. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las interacciones cromosómicas tal como se definen en el presente documento son una modalidad reguladora en sí mismas y no tienen una correspondencia uno a uno con ningún marcador genético (cambio de secuencia de ADN) ni con ningún otro marcador epigenético.

Los cambios que conducen a las interacciones cromosómicas pueden verse afectados por cambios en la secuencia de ácido nucleico subyacente que en sí mismos no afectan directamente a un producto génico o al modo de expresión génica. Dichos cambios pueden ser, por ejemplo, SNP dentro y/o fuera de los genes, fusiones genéticas y/o deleciones de ADN intergénico, microARN y ARN no codificante. Por ejemplo, se sabe que aproximadamente el 20 % de los SNP se encuentran en regiones no codificantes, por lo que el proceso descrito también es informativo en situaciones no codificantes. Normalmente, las regiones del cromosoma que se unen para formar la interacción están separadas por menos de 5 kb, 3 kb, 1 kb, 500 pares de bases o 200 pares de bases en el mismo cromosoma.

El proceso de la invención

El procedimiento de la invención comprende un sistema de tipificación para detectar interacciones cromosómicas relacionadas con el estado de respondedor. Se puede utilizar cualquier método de tipificación adecuado, por ejemplo, un método en el que se detecte la proximidad de los cromosomas en la interacción y/o en el que se detecte un marcador que refleje el estado de interacción cromosómica. El método de tipificación puede realizarse utilizando el sistema *EpiSwitch*[™] mencionado en el presente documento, que por ejemplo puede llevarse a cabo mediante un método que comprende las siguientes etapas (por ejemplo sobre ADN y/o una muestra del sujeto):

(i) reticular regiones de cromosomas que se han unido en una interacción cromosómica;

(ii) aislar opcionalmente el ADN reticulado de dicho locus cromosómico;

(iii) someter el ADN reticulado a escisión; y

(iv) ligar los ácidos nucleicos presentes en la entidad reticulada para derivar ácidos nucleicos ligados con secuencia de ambas regiones que formaron una interacción cromosómica.

La detección de este ácido nucleico ligado permite determinar la presencia o ausencia de una interacción cromosómica particular. Por tanto, el ácido nucleico ligado actúa como marcador de la presencia de la interacción cromosómica. Preferiblemente, el ácido nucleico ligado se detecta mediante PCR o un método basado en sonda, incluyendo un método qPCR.

En el método, los cromosomas pueden reticularse mediante cualquier medio adecuado, por ejemplo mediante un agente de reticulación, que normalmente es un compuesto químico. En un aspecto preferido, las interacciones se reticular utilizando formaldehído, pero también pueden reticularse mediante cualquier aldehído, o éster de ácido-N-hidroxisuccinimida D-biotinoil-e-aminocaproico o éster de ácido-N-hidroxisuccinimida Digoxigenina-3-O-metilcarbonyl-e-aminocaproico. El para-formaldehído puede reticular cadenas de ADN que están separadas por 4 angstroms. Preferiblemente las interacciones cromosómicas ocurren en el mismo cromosoma. Normalmente, las interacciones cromosómicas ocurren con una separación de entre 2 y 10 angstroms.

La reticulación es preferiblemente *in vitro*. La escisión se realiza preferiblemente mediante digestión de restricción con una enzima, tales como TaqI. La ligadura puede formar bucles de ADN.

5 Cuando se utiliza la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para detectar o identificar el ácido nucleico ligado, el tamaño del producto PCR producido puede ser indicativo de la interacción cromosómica específica que está presente y, por lo tanto, puede utilizarse para identificar el estado del locus. En aspectos preferidos se utilizan los cebadores que se muestran en cualquier tabla en el presente documento incluida, por ejemplo se utilizan los pares de cebadores que se muestran en la Tabla 2 o 8 (correspondientes a la interacción cromosómica que se está detectando). Se pueden utilizar los cebadores que se muestran en la Tabla 1. También se pueden utilizar homólogos de dichos cebadores o pares de cebadores, que pueden tener al menos un 70% de identidad con la secuencia original.

15 Cuando se utiliza una sonda para detectar o identificar el ácido nucleico ligado, esto se hace generalmente mediante apareamiento de bases basado en Watson-Crick entre la sonda y el ácido nucleico ligado. Se pueden utilizar secuencias de sonda como las que se muestran en cualquiera de las tablas en el presente documento incluidas, por ejemplo, las secuencias de sonda que se muestran en las Tablas 2 o 8 (que corresponden a la interacción cromosómica que se está detectando). Se pueden utilizar secuencias de sonda como las que se muestran en la Tabla 1. También pueden utilizarse homólogos de dichas secuencias de sonda, que pueden tener al menos un 70 % de identidad con la secuencia original.

20 La tipificación según el proceso de la invención se puede realizar en múltiples puntos de tiempo, por ejemplo para monitorear la progresión de la enfermedad. Esto puede ocurrir en uno o más puntos de tiempo definidos, por ejemplo, en al menos 1, 2, 5, 8 o 10 puntos de tiempo diferentes. Las duraciones entre al menos 1, 2, 5 u 8 de los puntos de tiempo pueden ser de al menos 5, 10, 20, 50, 80 o 100 días. Normalmente hay tres puntos de tiempo con una diferencia de al menos 50 días.

El individuo que será examinado y/o tratado

30 El individuo que se prueba en el método de la invención es preferiblemente un eucariota, animal, ave o mamífero. Lo más preferible es que el individuo sea un ser humano. El individuo puede ser hombre o mujer. En el caso de un individuo humano, normalmente tiene 65 años o más.

35 La invención incluye detectar y tratar grupos particulares en una población, que normalmente difieren en su estado de respuesta, por ejemplo su respuesta a la inmunoterapia. Los inventores han descubierto que las interacciones cromosómicas difieren entre estos grupos, y la identificación de estas diferencias permitirá a los médicos categorizar a sus pacientes como parte de un grupo particular de la población. Por lo tanto, la invención proporciona a los médicos un proceso de personalización de la medicina para un individuo en función de sus interacciones cromosómicas epigenéticas. Dichas pruebas pueden utilizarse para seleccionar cómo tratar posteriormente al paciente, por ejemplo, el tipo de medicamento que se le administrará. El proceso de la invención puede llevarse a cabo para seleccionar un tratamiento para un individuo, por ejemplo, si se administrará o no al individuo cualquier tratamiento específico mencionado en el presente documento.

45 El individuo que se prueba en el proceso de la invención puede haber sido seleccionado de alguna manera, por ejemplo con base en un factor de riesgo, síntoma o característica física. El individuo puede haber sido seleccionado en función de tener un síntoma de cáncer y/o estar en las primeras etapas de cáncer.

50 El individuo puede ser susceptible a cualquier cáncer mencionado en el presente documento y/o puede necesitar cualquier terapia mencionada en el presente documento. El individuo puede estar recibiendo cualquiera de las terapias mencionadas en el presente documento. En particular, el individuo puede tener, o sospecharse que tiene, cáncer, por ejemplo cualquier cáncer específico mencionado en el presente documento.

Tipos de cáncer

55 El cáncer que es relevante para la invención puede incluir cualquier cáncer mencionado en el presente documento, y preferiblemente es melanoma, cáncer de pulmón, carcinoma de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), linfoma difuso de células B grandes, cáncer de hígado, carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, cáncer de mama, leucemia, leucemia mieloide aguda, cáncer de páncreas, cáncer de tiroides, cáncer nasal, cáncer de cerebro, cáncer de vejiga, cáncer de cuello uterino, linfoma no Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer colorrectal o cáncer de riñón. El cáncer puede ser uno que pueda tratarse mediante inmunoterapia, por ejemplo, cualquier inmunoterapia específica mencionada en el presente documento.

Tipos de inmunoterapia

65 La invención se refiere a la determinación de la respuesta a la inmunoterapia, y en particular si el individuo responde a la inmunoterapia y/o si es hiperprogresor en quien la inmunoterapia provocará una aceleración de la enfermedad.

Preferiblemente, la respuesta que se determina es a una terapia que comprende una molécula o célula que es relevante para el sistema inmunológico, tal como una composición que comprende un anticuerpo o célula inmune (por ejemplo, una célula T o una célula dendrítica) o cualquier sustancia terapéutica mencionada en el presente documento. Puede ser una respuesta a una sustancia que modula o estimula el sistema inmunológico, tal como una terapia con vacunas. La inmunoterapia puede modular, bloquear o estimular un punto de control inmunológico y, por lo tanto, puede apuntar o modular PD-L1, PD-L2 o CTLA4 o cualquier otra molécula de punto de control inmunológico divulgada en el presente documento y, por lo tanto, es preferiblemente una terapia de punto de control inmunológico. Preferiblemente, la respuesta es la capacidad de respuesta a una terapia con anticuerpos o a cualquier terapia específica divulgada en el presente documento. La terapia puede ser una terapia combinada, por ejemplo, cualquier terapia combinada específica divulgada en el presente documento.

En una realización, la respuesta es a un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1, incluido un anticuerpo específico para PD-1 o PD-L1. PD-1 es "proteína de muerte celular programada" y PD-L1 es "ligando de muerte programada 1".

El término "anticuerpo" incluye todos los fragmentos y derivados de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse al antígeno objetivo, por ejemplo, scFV o Fab de cadena simple.

La terapia puede ser monoterapia o terapia combinada, por ejemplo con moduladores de puntos de control inmunológico (preferiblemente inhibidores) para PD-1 y/o su ligando, PD-L1. La terapia podría comprender la administración de al menos un modulador de punto de control inmunológico, por ejemplo tal como se describe en el presente documento, tal como en cualquier tabla, figura o ejemplo. La terapia podría ser una combinación de un anti-PD-1 o anti-PD-L1 combinado con otro fármaco que se dirija a un punto de control como CTLA4 (Ipilimumab/Yervoy) o moléculas pequeñas. Los inhibidores de PD-1 podrían ser pembrolizumab (Keytruda) o nivolumab (Opdivo). El modulador de PD-L1 o agente terapéutico podría ser Atezolizumab (Tecentriq), Avelumab (Bavencio), Durvalumab (Imfinzi), CA-170, Ipilimumab, Tremelimumab, Nivolumab, Pembrolizumab, Pidilizumab, BMS935559, GVAXMPDL3280A, MEDI4736, MSB0010718C, MDX-1105/BMS-936559, AMP-224, MEDI0680.

La terapia puede comprender la administración de agentes que se dirijan a y/o modulen el interferón gamma o la vía JAK-START.

El agente terapéutico puede ser cualquiera de dichos agentes descritos en cualquier tabla en el presente documento o puede apuntar a cualquier 'objetivo' descrito en el presente documento, incluida cualquier proteína descrita en el presente documento. Se entiende que cualquier agente que se divulgue en una combinación debe considerarse también como divulgado para su administración individual.

Hiperprogresores

La hiperprogresión del cáncer puede ser reconocida de manera sencilla por un experto en la materia, y es preferiblemente un aumento en la progresión de la enfermedad del cáncer tras la administración de inmunoterapia y/o una respuesta adversa a la inmunoterapia en un individuo con cáncer. Se puede medir utilizando cualquier parámetro adecuado para la enfermedad, como por ejemplo un aumento de dos veces en el tamaño del tumor. Normalmente se trata de un aumento de más del 50% en la carga tumoral dentro de los 60 días posteriores a la administración de inmunoterapia. En un aspecto, los hiperprogresores pueden definirse como aquellos que tienen menos de 60 días libres de progresión después de la administración de inmunoterapia y/o una supervivencia general de menos de 150 días después de la inmunoterapia.

Elección del tratamiento

Con base en los resultados de las pruebas realizadas mediante el método de la invención se pueden tomar decisiones acerca de qué tratamientos se administrarán o no al individuo.

Si se determina que una persona responde a la inmunoterapia, se le podría administrar cualquier inmunoterapia mencionada en el presente documento. En un aspecto, si se descubre que un individuo no responde, se le puede administrar una terapia combinada, tal como cualquier terapia combinada enumerada en el presente documento. Normalmente, una terapia combinada comprende un anticuerpo y una molécula pequeña.

Los datos de los cuadros que figuran en este documento

Las Tablas 1, 2 y 8 muestran marcadores específicos que pueden usarse para detectar el estado de respuesta. Su presencia o ausencia puede utilizarse en dicha detección (es decir, son marcadores "diseminadores"). Las tablas 1 y 8 muestran marcadores que detectan la respuesta a la inmunoterapia, y la tabla muestra cuáles están vinculados a la respuesta y cuáles están vinculados a la falta de respuesta. En la Tabla 2 se muestran los marcadores que detectan a los hiperprogresores, y las tablas muestran cuáles están relacionados con ser un hiperprogresor y cuáles están relacionados con una enfermedad estable.

ES 3 029 416 T3

Los marcadores se definen utilizando secuencias de sonda (que detectan un producto ligado como se define en el presente documento). Los dos primeros conjuntos de posiciones de inicio y fin muestran las posiciones de la sonda, y los dos segundos conjuntos de posiciones de inicio y fin muestran la región de 4 kb relevante.

5

La siguiente información se proporciona en la tabla de datos de la sonda:

RP - Suma las estadísticas del producto de rango evaluadas por cada interacción cromosómica.

10 FC - Frecuencia de interacción (positiva o negativa).

Pfp - porcentaje estimado de predicciones falsas positivas (pfp), considerando ambas interacciones cromosómicas positivas y negativas.

15 Pval - valores p estimados para cada CCS, siendo positivos y negativos.

Valor p ajustado (FDR) - valor p ajustado de la tasa de descubrimientos falsos.

Tipo - en qué estado se encuentra el bucle.

20

La estimación basada en permutación simple se utiliza para determinar la probabilidad de que se observe un valor RP dado o mejor en un experimento aleatorio. Esto tiene las siguientes etapas:

1. Generar p permutaciones de k listas de rangos de longitud n.

25

2. Calcular los productos de rango de los n CCS en las p permutaciones.

3. Contar (c) cuántas veces los productos de rango del CCS en las permutaciones son menores o iguales al producto de rango observado. Establecer c en este valor.

30

4. Calcular el valor esperado promedio para el producto de rango mediante: $Erp(g)=c/p$.

5. Calcular el porcentaje de falsos positivos como: $pfp(g)=Erp(g)/rank(g)$ donde $rank(g)$ es el rango de CCS g en una lista de todos los n CCS ordenados por RP creciente.

35

La estadística de producto de rango clasifica las interacciones cromosómicas según las intensidades dentro de cada microarray y calcula el producto de estos rangos a través de múltiples micromatrices. Esta técnica puede identificar interacciones cromosómicas que se detectan consistentemente entre las interacciones cromosómicas más diferenciales en una serie de microarreglos replicados. Cuando el valor p es 0, esto indica que hay muy poca variación en el producto de rango del CCS entre las muestras; este es un buen ejemplo de la relación señal-ruido y el tamaño del efecto del CCS. Donde el valor p es 0 y pfp es 0, esto significa que el producto de rango permutado no difiere del producto de rango observado real. Estos métodos se describen Breitling R y Herzyk P (2005) Métodos basados en rango como una alternativa no paramétrica de la prueba t para el análisis de datos de microarrays biológicos. J Bioinf Comp Biol 3, 1171-1189.

45

La FC indica la prevalencia del marcador en cada comparación, 2 significa el doble del promedio de la prueba, 1,5 significa 1,5 sobre el promedio de la prueba, etc., y por lo tanto la FC indica el peso de un marcador para el fenotipo/grupo. El valor FC se puede utilizar para dar una indicación de cuántos marcadores se necesitan para una prueba altamente efectiva.

50

Las sondas están diseñadas para estar a 30 pb del sitio TaqI. En el caso de la PCR, los cebadores de la PCR suelen estar diseñados para detectar el producto ligado, pero su ubicación con respecto al sitio TaqI varía. Ubicaciones de las sondas:

55 Inicio 1 - 30 bases aguas arriba del sitio TaqI en el fragmento 1

Extremo 1 - Sitio de restricción TaqI en el fragmento 1

Inicio 2 - Sitio de restricción TaqI en el fragmento 2

60

Extremo 2 - 30 bases aguas abajo del sitio TaqI en el fragmento 2

Ubicación de la secuencia de 4kb:

65 Inicio 1 - 4000 bases aguas arriba del sitio TaqI en el fragmento 1

Extremo 1 - Sitio de restricción TaqI en el fragmento 1

Inicio 2 - Sitio de restricción TaqI en el fragmento 2

5 Extremo 2 - 4000 bases aguas abajo del sitio TaqI en el fragmento 2

Tipos de detección

10 Cuando la detección se realiza utilizando una sonda, normalmente se puede detectar la secuencia de ambas regiones de la sonda (es decir, de ambos sitios de la interacción cromosómica). En aspectos preferidos se utilizan en el proceso sondas que comprenden o consisten en la misma secuencia o una secuencia complementaria a una sonda que se muestra en cualquier tabla. En algunos aspectos se utilizan sondas que comprenden una secuencia que es homóloga a cualquiera de las secuencias de sonda que se muestran en las tablas.

15 *El enfoque adoptado para identificar marcadores y paneles de marcadores*

20 La invención descrita en el presente documento se relaciona con el perfil de conformación cromosómica y la arquitectura 3D como una modalidad reguladora por derecho propio, estrechamente vinculada al fenotipo. El descubrimiento de biomarcadores se basó en anotaciones mediante reconocimiento de patrones y cribado en cohortes representativas de muestras clínicas que representan las diferencias en los fenotipos. Anotamos y examinamos partes significativas del genoma, en partes codificantes y no codificantes y en grandes extensiones de 5' y 3' no codificantes de genes conocidos, para identificar conformaciones cromosómicas condicionales consistentes y estadísticamente diseminadas, que por ejemplo se anclan en sitios no codificantes dentro (intrónicos) o fuera de marcos de lectura abiertos.

25 En la selección de los mejores marcadores nos guiamos por datos estadísticos y valores p para los marcadores principales. Las conformaciones cromosómicas seleccionadas y validadas dentro de la firma son entidades estratificadoras diseminadoras por derecho propio, independientemente de los perfiles de expresión de los genes utilizados en la referencia.

30 Se puede realizar más trabajo sobre las modalidades reguladoras relevantes, como los SNP en los sitios de anclaje, los cambios en los perfiles de transcripción genética y los cambios a nivel de H3K27ac.

35 Estamos abordando la cuestión de las diferencias en los fenotipos clínicos y su estratificación desde la base de la biología fundamental y los controles epigenéticos sobre el fenotipo, incluido, por ejemplo, el marco de la red de regulación. Como tal, para ayudar a la estratificación, se pueden capturar cambios en la red y esto se hace preferiblemente a través de firmas de varios biomarcadores, por ejemplo, siguiendo un algoritmo de aprendizaje automático para la reducción de marcadores que incluye la evaluación de la cantidad óptima de marcadores para estratificar la cohorte de prueba con un ruido mínimo. Esto puede terminar con 3-20 marcadores.

40 La selección de marcadores para los paneles puede realizarse mediante el rendimiento estadístico de validación cruzada (y no, por ejemplo, mediante la relevancia funcional de los genes vecinos, utilizados para el nombre de referencia).

45 Un panel de marcadores (con nombres de genes adyacentes) es un producto de la selección agrupada a partir de la evaluación en partes significativas del genoma, analizando de manera no sesgada los poderes de difusión estadística en 14.000-60.000 sitios EpiSwitch anotados en partes significativas del genoma. No debe percibirse como una captura personalizada de una conformación cromosómica en un gen de valor funcional conocido para la cuestión de la estratificación. El número total de sitios de interacción cromosómica es 1,2 millones, por lo que el número potencial de combinaciones es 1,2 millones elevado a 1,2 millones. Sin embargo, el enfoque que hemos seguido permite identificar las interacciones cromosómicas relevantes.

50 Los marcadores específicos que proporciona esta aplicación han pasado la selección, estando asociados estadísticamente (significativamente) con la condición o subgrupo. Esto es lo que demuestran los datos de la tabla correspondiente. Cada marcador puede verse como la representación de un evento de epigenética biológica como parte de la desregulación de la red que se manifiesta en la condición relevante. En términos prácticos, significa que estos marcadores prevalecen en todos los grupos de pacientes en comparación con los controles. En promedio, a modo de ejemplo, un marcador individual puede estar presente típicamente en el 80 % del grupo de respondedores relevante y en el 10 % de los controles y, por lo tanto, los resultados de la prueba mediante el método de la invención son fáciles de interpretar y esencialmente equivalen a una "lectura binaria".

55 La simple adición de todos los marcadores no representaría directamente las interrelaciones de la red entre algunas de las desregulaciones. en el presente documento es donde puede utilizarse el análisis de biomarcadores multivariados estándar GLMNET (paquete R). El paquete GLMNET ayuda a identificar la interdependencia entre algunos de los marcadores, que reflejan su papel conjunto en el logro de desregulaciones que conducen al fenotipo de la enfermedad. El modelado y posterior prueba de los marcadores con las puntuaciones GLMNET más altas no

solo permite identificar el número mínimo de marcadores que identifica con precisión la cohorte de pacientes, sino también el número mínimo que ofrece la menor cantidad de resultados falsos positivos en el grupo de control de pacientes, debido al ruido estadístico de fondo de baja prevalencia en el grupo de control. Normalmente, un grupo (combinación) de marcadores seleccionados (por ejemplo, de 3 a 11) ofrece el mejor equilibrio entre la sensibilidad y la especificidad de la detección, lo que surge en el contexto del análisis multivariado a partir de las propiedades individuales de todos los marcadores estadísticamente significativos seleccionados para la afección.

Las tablas que se incluyen en el presente documento muestran los nombres de referencia de las sondas de matriz (60-mer) para el análisis de matriz que se superpone a la unión entre los sitios de interacción de largo alcance, el número de cromosomas y el inicio y el final de dos fragmentos cromosómicos que entran en yuxtaposición.

En un aspecto preferido, los 11 marcadores de la Tabla 1 están tipificados. En otro aspecto preferido, los 11 marcadores de la Tabla 2 están tipificados. En otro aspecto preferido, los 8 marcadores de la Tabla 8 están tipificados.

Muestras y tratamiento de muestras

El proceso de la invención se llevará a cabo normalmente sobre una muestra. La muestra puede obtenerse en un punto de tiempo definido, por ejemplo en cualquier punto de tiempo definido en el presente documento. La muestra contendrá normalmente ADN del individuo. Normalmente contendrá células. En un aspecto, la muestra se obtiene por medios mínimamente invasivos y puede ser, por ejemplo, una muestra de sangre. El ADN puede extraerse y cortarse con una enzima de restricción estándar. Esto puede predeterminar qué conformaciones cromosómicas se conservan y se detectarán con las plataformas EpiSwitch™. Debido a la sincronización de las interacciones cromosómicas entre los tejidos y la sangre, incluida la transferencia horizontal, se puede usar una muestra de sangre para detectar las interacciones cromosómicas en los tejidos, como los tejidos relevantes para la enfermedad.

Aspectos preferidos para la preparación de muestras y la detección de interacciones cromosómicas

Se describen en este documento métodos para preparar muestras y detectar conformaciones cromosómicas. Pueden utilizarse versiones optimizadas (no convencionales) de estos procesos, por ejemplo, como se describe en esta sección.

Normalmente, la muestra contendrá al menos 2×10^5 células. La muestra puede contener hasta 5×10^5 células. En un aspecto, la muestra contendrá de 2×10^5 a $5,5 \times 10^5$ células.

Se describe en este documento la reticulación de interacciones cromosómicas epigenéticas presentes en el locus cromosómico. Esto puede realizarse antes de que se produzca la lisis celular. La lisis celular puede realizarse durante 3 a 7 minutos, como, por ejemplo, de 4 a 6 o aproximadamente 5 minutos. En algunos aspectos, la lisis celular se realiza durante al menos 5 minutos y durante menos de 10 minutos.

En este documento se describe la digestión de ADN con una enzima de restricción. Normalmente, la restricción de ADN se realiza a una temperatura de aproximadamente 55 °C a aproximadamente 70 °C, como, por ejemplo, aproximadamente 65 °C, durante un período de aproximadamente 10 a 30 minutos, como aproximadamente 20 minutos.

Preferiblemente se utiliza una enzima de restricción de corte frecuente que da lugar a fragmentos de ADN ligado con un tamaño medio de fragmento de hasta 4000 pares de bases. Opcionalmente, la enzima de restricción da como resultado fragmentos de ADN ligado que tienen un tamaño de fragmento promedio de aproximadamente 200 a 300 pares de bases, como aproximadamente 256 pares de bases. En un aspecto, el tamaño típico del fragmento es de 200 pares de bases a 4.000 pares de bases, como de 400 a 2.000 o de 500 a 1.000 pares de bases.

En un aspecto del proceso EpiSwitch no se realiza un paso de precipitación del ADN entre el paso de digestión de restricción del ADN y el paso de ligación del ADN.

Se describe en este documento la ligadura de ADN. normalmente, la ligadura del ADN se realiza durante 5 a 30 minutos, tal como aproximadamente 10 minutos.

La proteína de la muestra puede digerirse enzimáticamente, por ejemplo utilizando una proteinasa, opcionalmente Proteinasa K. La proteína puede digerirse enzimáticamente durante un periodo de entre 30 minutos y 1 hora, por ejemplo durante unos 45 minutos. En un aspecto, después de la digestión de la proteína, por ejemplo la digestión con Proteinasa K, no hay reversión de enlaces cruzados ni paso de extracción de ADN con fenol.

En un aspecto, la detección por PCR es capaz de detectar una sola copia del ácido nucleico ligado, preferiblemente con una lectura binaria de presencia/ausencia del ácido nucleico ligado.

La Figura 1 muestra un proceso preferido para detectar interacciones cromosómicas.

Procesos y usos de la invención

5 El proceso de la invención puede describirse de diferentes maneras. Puede describirse como un proceso para producir uno o más ácidos nucleicos ligados que comprende (i) reticular *in vitro* de regiones cromosómicas que se han unido en una interacción cromosómica; (ii) someter dicho ADN reticulado a corte o escisión por digestión de restricción; y (iii) ligar dichos extremos de ADN reticulado escindido para formar uno o más ácidos nucleicos ligados, en donde opcionalmente la detección del ácido nucleico ligado puede usarse para determinar el estado cromosómico en un locus, y en donde preferiblemente las interacciones cromosómicas pueden ser 1, 3, 5, 8 o todas las interacciones cromosómicas de la Tabla 1 o 2. En este proceso, las interacciones cromosómicas pueden ser 1, 3, 5 u 8 de las interacciones cromosómicas de la Tabla 8.

Homólogos

15 En el presente documento se hace referencia a homólogos de secuencias de polinucleótidos / ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN). Dichos homólogos tienen normalmente al menos un 70 % de homología, preferiblemente al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de homología, por ejemplo, en una región de al menos 10, 15, 20, 30, 100 o más nucleótidos contiguos, o a través de la porción del ácido nucleico que es de la región del cromosoma implicada en la interacción cromosómica. La homología se puede calcular sobre la base de la identidad de los nucleótidos (a veces denominada "homología dura").

25 Por lo tanto, en un aspecto particular, los homólogos de secuencias de polinucleótidos / ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN) se mencionan en el presente documento por referencia al porcentaje de identidad de secuencia. Dichos homólogos tienen normalmente al menos un 70 % de identidad de secuencias, preferiblemente al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencias, por ejemplo, en una región de al menos 10, 15, 20, 30, 100 o más nucleótidos contiguos, o a través de la porción del ácido nucleico que es de la región del cromosoma implicada en la interacción cromosómica. Los homólogos pueden tener al menos un 70 % de identidad de secuencia, preferiblemente al menos un 80 %, al menos un 85 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, al menos un 97 %, al menos un 98 % o al menos un 99 % de identidad de secuencia en toda la sonda, el cebador o el par de cebadores.

35 Por ejemplo, el paquete UWGCG proporciona el programa BESTFIT, que puede utilizarse para calcular la homología y/o el % de identidad de secuencia (por ejemplo, si se utiliza con la configuración predeterminada) (Devereux et al (1984) *Nucleic Acids Research* 12, p387-395). Los algoritmos PILEUP y BLAST pueden utilizarse para calcular la homología y/o el % de identidad de secuencias y/o alinear secuencias (como la identificación de secuencias equivalentes o correspondientes (normalmente en su configuración por defecto)), por ejemplo como se describe en Altschul S. F. (1993) *J Mol Evol* 36:290-300; Altschul, S, F et al (1990) *J Mol Biol* 215:403-10.

45 El software para la realización del análisis con BLAST se encuentra disponible públicamente a través del Centro Nacional para la Información Biotecnológica. Este algoritmo implica identificar primero los pares de secuencias con puntuación alta (HSP, por sus siglas en inglés) mediante la identificación de palabras cortas de longitud W en la secuencia problema que corresponde o satisface alguna puntuación umbral T valorada de forma positiva cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en una secuencia de base de datos. La T hace referencia a la puntuación umbral de la palabra más próxima (Altschul *et al*, supra). Estos resultados iniciales de la palabra más próxima actúan como punto de partida para iniciar las búsquedas para encontrar HSP más largos que las contengan. Los resultados de la palabra se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia hasta el grado en que pueda incrementarse la puntuación de alineamiento acumulativa. La extensión de los resultados de la palabra en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de alineamiento acumulativa desciende por la cantidad X del valor máximo logrado; la puntuación acumulativa disminuye a cero o menos, debido a la acumulación de uno o más alineamientos de residuos de puntuación negativa; o se alcanza el final de alguna secuencia. Los parámetros W5 T y X del algoritmo BLAST determinan la sensibilidad y la velocidad del alineamiento. El programa BLAST utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 11, la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff y Henikoff, (1992) *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 10915-10919) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M = 5, N = 4 y una comparación de ambas hebras.

60 El algoritmo BLAST realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias; véase, por ejemplo, Karlin and Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5787. Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la menor probabilidad de suma (P(N)), la que es una indicación de la probabilidad de que una coincidencia entre dos secuencias de polinucleótidos ocurra por casualidad. Por ejemplo, se considera que una secuencia es similar a otra secuencia si la menor probabilidad de suma al comparar la primera secuencia a la segunda secuencia es menor que aproximadamente 1; preferiblemente menor que aproximadamente 0,1; más preferiblemente menor que aproximadamente 0,01; y lo más preferiblemente menor que aproximadamente 0,001.

La secuencia homóloga difiere típicamente en 1, 2, 3, 4 o más bases, como por ejemplo menos de 10, 15 o 20 bases (que pueden ser sustituciones, deleciones o inserciones de nucleótidos). Estos cambios pueden medirse en cualquiera de las regiones mencionadas anteriormente en relación con el cálculo de la homología y/o el porcentaje de identidad de secuencia.

5 La homología de un "par de cebadores" se puede calcular, por ejemplo, considerando las dos secuencias como una sola secuencia (como si las dos secuencias estuvieran unidas) con el propósito de luego compararlas con el otro par de cebadores que nuevamente se considera como una sola secuencia.

10 *El umbral de detección*

Se ha descubierto que los marcadores que se divulgan en el presente documento son "marcadores de difusión" capaces de determinar el estado de respuesta y las tablas 1 y 2 muestran en qué grupo de respuesta está presente cada marcador (respondedor/no respondedor a la inmunoterapia o hiperprogresor/enfermedad estable).

15 En términos prácticos, significa que estos marcadores prevalecen en todo el grupo de respondedores relevante en comparación con los controles (como lo muestra el valor FC, por ejemplo). En promedio, a modo de ejemplo, un marcador individual puede estar presente típicamente en el 80 % del grupo de respondedores relevantes y en el 10 % de los controles. Al evaluar a un individuo, el resultado será una combinación de interacciones cromosómicas "presentes" y "ausentes" para cada uno de los marcadores mostrados en las Tablas 1 o 2, lo que permite determinar el grupo de respuesta del individuo. Normalmente, la presencia/ausencia de al menos 8 de 11 marcadores, en comparación con el resultado "ideal" mostrado en la tabla, permite asignar al individuo a un grupo de respuesta.

25 *Agentes terapéuticos y tratamientos*

Esta sección es relevante tanto para las inmunoterapias que definen el grupo de respuesta del individuo como también para la terapia que se puede administrar a los individuos en función de los resultados del método de prueba de la invención.

30 Divulgamos agentes terapéuticos para su uso en la prevención o tratamiento de cualquier condición mencionada en el presente documento. Esto puede incluir administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del agente. Divulgamos el uso del agente en la fabricación de un medicamento para prevenir o tratar la afección, por ejemplo, en individuos evaluados mediante el método de la invención.

35 La formulación del agente dependerá de la naturaleza del agente. El agente se proporcionará en forma de una composición farmacéutica que contiene el agente y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los portadores y diluyentes adecuados incluyen soluciones salinas isotónicas, por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato. Las composiciones de dosificación oral típicas incluyen comprimidos, cápsulas, soluciones líquidas y suspensiones líquidas. El agente puede formularse para administración parenteral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, transdérmica u oral.

45 La dosis de un agente puede determinarse de acuerdo a diversos parámetros, especialmente de acuerdo a la sustancia utilizada; la edad, el peso y la condición del individuo a tratar; la vía de administración; y el régimen requerido. Un médico podrá determinar la vía de administración y la dosis requeridas para cualquier agente en particular. Una dosis adecuada puede ser, sin embargo, de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal, tal como por ejemplo de 1 a 40 mg/kg de peso corporal, que se tomará de 1 a 3 veces al día.

50 Divulgamos un agente inmunoterapéutico, preferiblemente seleccionado de cualquiera de las tablas 4 a 6, para su uso en un método de tratamiento de un individuo identificado como sensible a la inmunoterapia, comprendiendo opcionalmente dicho método:

- identificar si un individuo responde a la inmunoterapia mediante el método de la invención, y
- administrar a cualquier individuo identificado como sensible a la inmunoterapia dicho agente.

55 Divulgamos (i) una inmunoterapia combinada o (ii) un agente terapéutico que no es una inmunoterapia para su uso en un método de tratamiento de un individuo identificado como no respondedor a la inmunoterapia, comprendiendo opcionalmente dicho método:

- 60 – identificar si un individuo responde a la inmunoterapia mediante el método de la invención, y
- administrar a cualquier individuo identificado como no respondedor (i) y/o (ii), en donde opcionalmente la terapia de combinación de (i) es cualquier terapia de combinación que se muestra en la tabla 4 o que comprende al menos un agente elegido de las tablas 4 y 5.

65

Detección de agentes terapéuticos

5 Divulgamos un método de detección para identificar agentes terapéuticos para el cáncer que comprende determinar si un agente candidato es capaz de provocar un cambio en todas las interacciones cromosómicas que se muestran en la Tabla 1 y/o la Tabla 2. Este método de detección puede comprender determinar si un agente candidato es capaz de provocar un cambio en todas las interacciones cromosómicas que se muestran en la Tabla 8.

Ácidos nucleicos

10 Divulgamos ciertos ácidos nucleicos, incluidas sondas y cebadores. Preferiblemente los ácidos nucleicos son ADN. Se entiende que cuando se proporciona una secuencia específica, la invención puede utilizar la secuencia complementaria según se requiera en el aspecto particular.

15 Los cebadores o sondas que se muestran en la Tabla 1 o 2 pueden usarse en la invención. En un aspecto, se utilizan sondas o cebadores que comprenden cualquiera de: las secuencias mostradas en la Tabla 1 o 2; o fragmentos y/o homólogos de cualquier secuencia mostrada en la Tabla 1 o 2. Los cebadores o sondas que se muestran en la Tabla 8 se pueden utilizar en la invención. En un aspecto, se utilizan sondas o cebadores que comprenden cualquiera de: las secuencias que se muestran en la Tabla 8; o fragmentos y/o homólogos de cualquier secuencia que se muestra en la Tabla 8.

Ácidos nucleicos etiquetados y patrón de hibridación

25 Los ácidos nucleicos mencionados en este documento pueden etiquetarse, preferiblemente usando una etiqueta independiente tal como un fluoróforo (molécula fluorescente) o una etiqueta radiactiva que ayuda a la detección de una hibridación exitosa. Algunas etiquetas pueden detectarse bajo la luz ultravioleta.

Formas de la sustancia mencionada en este documento

30 Cualquiera de las sustancias, como los ácidos nucleicos o los agentes terapéuticos, aquí mencionadas puede estar en forma purificada o aislada. Pueden tener una forma distinta a la que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo, pueden estar presentes en combinación con otra sustancia con la que no se dan en la naturaleza. Los ácidos nucleicos (incluidas porciones de secuencias definidas en este documento) pueden tener secuencias diferentes a las que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo, tener al menos 1, 2, 3, 4 o más cambios de nucleótidos en la secuencia como se describe en la sección sobre homología. Los ácidos nucleicos pueden tener secuencia heteróloga en el extremo 5' o 3'. Los ácidos nucleicos pueden ser químicamente diferentes de los que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo, pueden estar modificados de alguna manera, pero preferiblemente aún son capaces de realizar apareamientos de bases Watson-Crick. Cuando sea apropiado, los ácidos nucleicos se proporcionarán en forma bicatenaria o monocatenaria. La invención proporciona todas las secuencias específicas de ácido nucleico mencionadas en el presente documento en forma de cadena simple o doble, y por lo tanto incluye la cadena complementaria a cualquier secuencia que se divulgue.

45 Se divulga un kit para llevar a cabo cualquier procedimiento de la invención, incluyendo la detección de una interacción cromosómica relacionada con el pronóstico. Un kit de este tipo puede incluir un agente de unión específico capaz de detectar la interacción cromosómica relevante, tal como agentes capaces de detectar un ácido nucleico ligado generado mediante procesos de la invención. Los agentes preferidos presentes en el kit incluyen sondas capaces de hibridar con el ácido nucleico ligado o pares de cebadores, por ejemplo como se describe en el presente documento, capaces de amplificar el ácido nucleico ligado en una reacción de PCR. Los agentes preferidos incluyen cualquiera de los cebadores y sondas específicos descritos en el presente documento y/o homólogos de dichos cebadores y sondas.

55 Revelamos un dispositivo que es capaz de detectar las interacciones cromosómicas relevantes. El dispositivo comprende preferiblemente cualquier agente de unión específico, sonda o par de cebadores capaces de detectar la interacción cromosómica, tal como cualquier agente, sonda o par de cebadores descritos en el presente documento.

Proceso de detección

60 En un aspecto, la detección cuantitativa de la secuencia ligada que es relevante para una interacción cromosómica se lleva a cabo utilizando una sonda que es detectable tras la activación durante una reacción de PCR, en donde dicha secuencia ligada comprende secuencias de dos regiones cromosómicas que se unen en una interacción cromosómica epigenética, en donde dicho proceso comprende poner en contacto la secuencia ligada con la sonda durante una reacción de PCR y detectar el grado de activación de la sonda, y en donde dicha sonda se une al sitio de ligadura. El proceso normalmente permite detectar interacciones particulares de manera compatible con MIQE
65 utilizando una sonda de hidrólisis fluorescente de doble marcado.

La sonda generalmente está marcada con una etiqueta detectable que tiene un estado inactivo y activo, de modo que solo se detecta cuando se activa. El grado de activación estará relacionado con la cantidad de plantilla (producto de ligadura) presente en la reacción de PCR. La detección puede llevarse a cabo durante toda o parte de la PCR, por ejemplo durante al menos el 50 % o el 80 % de los ciclos de la PCR.

5

La sonda puede comprender un fluoróforo unido covalentemente a un extremo del oligonucleótido, y un extintor unido al otro extremo del nucleótido, de modo que la fluorescencia del fluoróforo es extinguida por el extintor. En un aspecto, el fluoróforo está unido al extremo 5' del oligonucleótido y el extintor está unido covalentemente al extremo 3' del oligonucleótido. Los fluoróforos que se pueden utilizar en el proceso de la invención incluyen FAM, TET, JOE, Yakima Yellow, HEX, Cyanine3, ATTO 550, TAMRA, ROX, Texas Red, Cyanine 3.5, LC610, LC 640, ATTO 647N, Cyanine 5, Cyanine 5.5 y ATTO 680. Los extintores que se pueden utilizar con el fluoróforo apropiado incluyen TAM, BHQ1, DAB, Eclip, BHQ2 y BBQ650, donde opcionalmente dicho fluoróforo se selecciona entre HEX, Texas Red y FAM. Las combinaciones preferidas de fluoróforo y extintor incluyen FAM con BHQ1 y Texas Red con BHQ2.

10

15

Uso de la sonda en un ensayo qPCR

Las sondas de hidrólisis de la invención normalmente están optimizadas por gradiente de temperatura con controles negativos adaptados a la concentración. Preferiblemente se optimizan las reacciones de PCR de una sola etapa. Más preferiblemente es calcular una curva estándar. Una ventaja de utilizar una sonda específica que se une a través de la unión de la secuencia ligada es que se puede lograr la especificidad de la secuencia ligada sin utilizar un enfoque de PCR anidada. Los procesos descritos en el presente documento permiten una cuantificación precisa y exacta de dianas con un número de copias bajo. La secuencia ligada objetivo se puede purificar, por ejemplo, en gel, antes de la optimización del gradiente de temperatura. La secuencia ligada diana se puede secuenciar. Preferiblemente, las reacciones de PCR se realizan utilizando aproximadamente 10 ng, o 5 a 15 ng, o 10 a 20 ng, o 10 a 50 ng, o 10 a 200 ng de ADN plantilla. Los cebadores directos e inversos están diseñados de modo que un cebador se une a la secuencia de una de las regiones cromosómicas representadas en la secuencia de ADN ligada, y el otro cebador se une a otra región cromosómica representada en la secuencia de ADN ligada, por ejemplo, siendo complementario a la secuencia.

20

25

30

Elección de la diana de ADN ligado

La invención incluye seleccionar cebadores y una sonda para usar en un proceso de PCR como se define en el presente documento que comprende seleccionar cebadores en función de su capacidad para unirse y amplificar la secuencia ligada y seleccionar la secuencia de sonda en función de las propiedades de la secuencia diana a la que se unirá, en particular la curvatura de la secuencia diana.

35

Las sondas generalmente se diseñan/seleccionan para unirse a secuencias ligadas que son fragmentos de restricción yuxtapuestos que abarcan el sitio de restricción. En un aspecto de la invención, se calcula la curvatura prevista de posibles secuencias ligadas relevantes para una interacción cromosómica particular, por ejemplo utilizando un algoritmo específico al que se hace referencia en el presente documento. La curvatura se puede expresar en grados por vuelta helicoidal, por ejemplo 10,5° por vuelta helicoidal. Las secuencias ligadas se seleccionan para la orientación donde la secuencia ligada tiene un pico de propensión a la curvatura de al menos 5° por vuelta helicoidal, típicamente al menos 10°, 15° o 20° por vuelta helicoidal, por ejemplo 5° a 20° por vuelta helicoidal. Preferiblemente, la puntuación de propensión a la curvatura por vuelta helicoidal se calcula para al menos 20, 50, 100, 200 o 400 bases, tal como por ejemplo para 20 a 400 bases aguas arriba y/o aguas abajo del sitio de ligadura. Así, en un aspecto, la secuencia diana en el producto ligado tiene cualquiera de estos niveles de curvatura. Las secuencias diana también se pueden elegir en función de la energía libre de estructura termodinámica más baja.

40

45

50

Aspectos particulares

En aspectos particulares, ciertas interacciones cromosómicas no están tipificadas, por ejemplo, cualquier interacción específica mencionada no mencionada en el presente documento. En algunos aspectos solo se escriben los marcadores de la Tabla 1 o la Tabla 2 y no se escribe ningún otro marcador. En algunos aspectos, sólo se escriben los marcadores de la Tabla 2 o la Tabla 8 y no se escriben otros marcadores. En algunos aspectos, sólo se escriben los marcadores de la Tabla 1 y la Tabla 2 y no se escriben otros marcadores. En algunos aspectos, sólo se escriben los marcadores de la Tabla 2 y la Tabla 8 y no se escriben otros marcadores.

55

60

Técnicas utilizadas para identificar las interacciones cromosómicas relevantes específicas

La tecnología de la plataforma EpiSwitch™ detecta firmas reguladoras epigenéticas de cambios regulatorios entre condiciones normales y anormales en los loci. La plataforma EpiSwitch™ identifica y monitorea el nivel epigenético fundamental de la regulación genética asociada con las estructuras reguladoras de alto orden de los cromosomas humanos, también conocidas como firmas de conformación cromosómica. Las firmas cromosómicas son una etapa primaria distintiva en una cascada de desregulación genética. Son biomarcadores de alto orden con un conjunto

65

único de ventajas frente a las plataformas de biomarcadores que utilizan biomarcadores epigenéticos y de expresión genética tardíos, como la metilación del ADN y el perfil de ARN.

Ensayo de matriz EpiSwitch™

5 Las plataformas EpiSwitch™ de cribado de arrays personalizados vienen en 4 densidades de, 15K, 45K, 100K y 250K conformaciones cromosómicas únicas, cada fragmento químico se repite en los arrays 4 veces, lo que hace que las densidades efectivas sean 60K, 180K, 400K y 1 millón respectivamente.

10 *Matrices EpiSwitch™ diseñadas a medida*

La matrix 15K EpiSwitch™ puede analizar todo el genoma, incluidos unos 300 loci interrogados con Tecnología de descubrimiento de biomarcadores EpiSwitch™. La matriz EpiSwitch™ está construida sobre la plataforma de micromatrices CGH personalizadas Agilent SurePrint G3; esta tecnología ofrece 4 densidades, 60K, 180K, 400K y 15 1 millón de sondas. La densidad por matriz se reduce a 15K, 45K, 100K y 250K ya que cada sonda EpiSwitch™ se presenta como cuadruplicado, lo que permite la evaluación estadística de la reproducibilidad. El número promedio de marcadores EpiSwitch™ potenciales explorados por loci genético es 50, por lo tanto, los números de loci que se pueden investigar son 300, 900, 2000 y 5000.

20 *Canalización de matriz personalizada EpiSwitch™*

La matriz EpiSwitch™ es un sistema de color dual con un conjunto de muestras, después de la generación de la biblioteca EpiSwitch™, etiquetadas en Cy5 y el otro conjunto de muestras (controles) etiquetadas para 25 comparar/analizar en Cy3. Las matrices se escanean usando el escáner Agilent SureScan y los rasgos resultantes se extraen usando el software Agilent Feature Extraction. Luego, los datos se procesan usando los scripts de procesamiento de matrices EpiSwitch™ en R. Las matrices se procesan usando paquetes de color dual estándar en Bioconductor en R: Limma*. La normalización de las matrices se hace mediante la función normalizada dentro de matrices en Limma* y esto se aplica a los controles positivos Agilent en chip y a los controles positivos EpiSwitch™. Los datos se filtran en función de las llamadas de Agilent Flag, se eliminan las sondas de control de 30 Agilent y se promedian las sondas técnicas replicadas para poder analizarlas mediante Limma*. Las sondas se modelan en función de su diferencia entre los dos escenarios que se comparan y luego se corrigen usando la tasa de descubrimiento falso. Las sondas con coeficiente de variación (CV) $\leq 30\%$ que son $\leq -1,1$ o $\geq 1,1$ y pasan el valor p de FDR $p \leq 0,1$ se usan para una evaluación adicional. Para reducir aún más el conjunto de sondas, se realiza un análisis factorial múltiple usando el paquete FactorMineR en R.

35 * Nota: LIMMA son modelos lineales y procesos bayesianos empíricos para evaluar la expresión diferencial en experimentos de micromatrices. Limma es un paquete R para el análisis de datos de expresión genética que surgen de microarrays o RNA-Seq.

40 El grupo de sondas se selecciona inicialmente en función de los parámetros de valor p ajustado, FC y CV $< 30\%$ (punto de corte arbitrario) para la selección final. Los análisis posteriores y la lista final se elaboran basándose únicamente en los dos primeros parámetros (valor p ajustado; FC).

Canalización estadística

45 Las matrices de detección de EpiSwitch™ se procesan usando el paquete analítico EpiSwitch™ en R para seleccionar marcadores EpiSwitch™ de alto valor para su traducción a la plataforma PCR EpiSwitch™.

Etapa 1

50 Las sondas se seleccionan en función de su valor p corregido (tasa de falsos descubrimientos, FDR, por sus siglas en inglés), que es el producto de un modelo de regresión lineal modificado. Se seleccionan las sondas con un valor p inferior a $\leq 0,1$ y luego se reducen aún más por su índice epigenético (ER), las sondas ER deben ser $\leq -1,1$ o $\geq 1,1$ para poder seleccionarse para un análisis posterior. El último filtro es un coeficiente de variación (CV), las 55 sondas deben estar por debajo de $\leq 0,3$.

Etapa 2

60 Los 40 marcadores principales de las listas estadísticas se seleccionan en función de su ER para su selección como marcadores para la traducción de PCR. Los 20 marcadores principales con la mayor carga de ER negativa y los 20 marcadores principales con la mayor carga de ER positiva forman la lista.

Etapa 3

65 Los marcadores resultantes de la etapa 1, las sondas estadísticamente significativas, forman las bases del análisis de enriquecimiento usando enriquecimiento hipergeométrico (HE). Este análisis permite la reducción de

marcadores de la lista de sondas significativas y, junto con los marcadores de la etapa 2, forma la lista de sondas traducidas a la plataforma PCR EpiSwitch™.

5 Las sondas estadísticas son procesadas por HE para determinar qué ubicaciones genéticas tienen un enriquecimiento de sondas estadísticamente significativas, lo que indica qué ubicaciones genéticas son centros de diferencia epigenética.

10 Los loci enriquecidos más significativos basados en un valor p corregido se seleccionan para la generación de la lista de sondas. Se seleccionan las ubicaciones genéticas con un valor p inferior a 0,3 o 0,2. Las sondas estadísticas que asignan a estas ubicaciones genéticas, con los marcadores de la etapa 2, forman los marcadores de alto valor para la traducción por PCR de EpiSwitch™.

Diseño y procesamiento de matrices

15 *Diseño de matriz*

Los loci genéticos se procesan utilizando el software SII (actualmente v3.2) para:

20 – Extraer la secuencia del genoma en estos loci genéticos específicos (secuencia genética con 50 kb aguas arriba y 20 kb aguas abajo)

– Definir la probabilidad de que una secuencia dentro de esta región esté involucrada en CC

25 – Cortar la secuencia usando un RE específico

– Determinar qué fragmentos de restricción es probable que interactúen en una determinada orientación

– Clasificar la probabilidad de que diferentes CC interactúen entre sí.

30 – Determinar el tamaño de la matriz y, por lo tanto, el número de posiciones de sonda disponibles (x)

– Extraer las interacciones x/4.

35 – Para cada interacción, definir una secuencia de 30 pb hasta el sitio de restricción de la parte 1 y de 30 pb hasta el sitio de restricción de la parte 2. Verificar que esas regiones no sean repeticiones, si es así, exclúyalas y tome la siguiente interacción en la lista. Unión de ambos 30 pb para definir la sonda

40 – Crear una lista de x/4 sondas más las sondas de control definidas y replique 4 veces para crear una lista que se creará en la matriz

– Cargar la lista de sondas en el sitio web de diseño Sure de Agilent para la matriz CGH personalizada.

– Usar el grupo de sondas para diseñar la matriz CGH personalizada de Agilent,

45 *Procesamiento de matrices*

– Procesar muestras usando el Procedimiento operativo estándar (SOP) EpiSwitch™ para la producción de plantillas.

50 – Limpiar con precipitación de etanol mediante procesamiento de matriz de laboratorio.

– Procesar muestras según el kit completo de etiquetado de ADN Agilent SureTag: CGH basado en matriz de oligonucleótidos de Agilent para análisis de ADN genómico Etiquetado enzimático para sangre, células o tejidos

55 – Escanear utilizando el escáner Agilent C mediante el software de extracción de características de Agilent.

60 *Las firmas de biomarcadores EpiSwitch™ demuestran alta robustez, sensibilidad y especificidad en la estratificación de fenotipos de enfermedades complejas. Esta tecnología aprovecha los últimos avances en la ciencia de la epigenética, el monitoreo y la evaluación de las firmas de conformación cromosómica como una clase altamente informativa de biomarcadores epigenéticos. Los métodos de investigación actuales implementados en el entorno académico requieren de 3 a 7 días para el procesamiento bioquímico del material celular con el fin de detectar CCS. Estos procedimientos tienen una sensibilidad y reproducibilidad limitadas y, además, no cuentan con el beneficio de la información específica que proporciona el paquete analítico EpiSwitch™ en la etapa de diseño.*

65 *Identificación de marcadores in silico de matriz EpiSwitch™*

Los sitios CCS en todo el genoma se evalúan directamente mediante la matriz **EpiSwitch™** en muestras clínicas de cohortes de prueba para la identificación de todos los biomarcadores principales de estratificación relevantes. La plataforma de matriz EpiSwitch™ se utiliza para la identificación de marcadores debido a su capacidad de alto rendimiento y su capacidad para examinar grandes cantidades de loci rápidamente. La matriz utilizado fue el array Agilent custom-CGH, que permite interrogar marcadores identificados a través del software *in silico*.

PCR EpiSwitch™

Los marcadores potenciales identificados por la matriz *EpiSwitch™* se validan luego mediante PCR EpiSwitch™ o secuenciadores de ADN (es decir, Roche 454, Nanopore MiniON, etc.). Los principales marcadores de PCR estadísticamente significativos y con la mejor reproducibilidad se seleccionan para su posterior reducción al conjunto de firmas *EpiSwitch™* final y se validan en una cohorte independiente de muestras. La PCR *EpiSwitch™* puede ser realizada por un técnico capacitado siguiendo un protocolo de procedimiento operativo estandarizado. Todos los protocolos y fabricación de reactivos se realizan bajo acreditación ISO 13485 y 9001 para garantizar la calidad del trabajo y la capacidad de transferencia de los protocolos. *Las plataformas de biomarcadores de PCR EpiSwitch™ y matrices EpiSwitch™ son compatibles con el análisis tanto de sangre completa como de líneas celulares. Las pruebas son lo suficientemente sensibles para detectar anomalías en números muy bajos de copias utilizando pequeños volúmenes de sangre.*

Uso de un clasificador

El método de la invención puede incluir el análisis de las interacciones cromosómicas identificadas en el individuo, por ejemplo utilizando un clasificador, lo que puede aumentar el rendimiento, tal como la sensibilidad o la especificidad. El clasificador normalmente es uno que ha sido "entrenado" con muestras de la población y dicho entrenamiento puede ayudar al clasificador a detectar cualquier grupo de respondedores mencionado en el presente documento.

Esta invención se ilustra mediante los siguientes:

Ejemplos

Ejemplo 1. Desarrollo de un conjunto de marcadores universales y un conjunto de marcadores para detectar hiperprogresores

Al trabajar con poblaciones de pacientes sometidos a inmunoterapia para el cáncer, se desarrollaron dos conjuntos de marcadores distintos: uno es un conjunto de marcadores universal que permite detectar la respuesta a la terapia en una variedad de cánceres y terapias específicas, y el segundo es un conjunto de marcadores que detecta hiperprogresores que nunca deberían ser tratados con tipos particulares de inmunoterapia.

Ahora hemos definido un panel especializado, distinto y optimizado de 11 biomarcadores (el conjunto universal), a partir de unos pocos cientos identificados en una matriz de detección original y probados posteriormente en cohortes específicas de pacientes. La característica única de cada uno de estos 11 marcadores es que cada uno de ellos es estadísticamente significativo (como parte del núcleo descubierto) en todos los casos de PD-1/PD-L1 en todas las indicaciones oncológicas evaluadas, lo que define un núcleo universal de respuesta/no respuesta al tratamiento por PD-1/PD-L1. Un clasificador que utiliza estos 11 marcadores funciona de manera muy sólida como una entidad de desempeño diferenciada en todas las cohortes de pacientes evaluadas.

Como antecedente del presente trabajo, la Figura 1 muestra el desempeño de la predicción basal de la respuesta/no respuesta para avelumab (PD-L1) en NSCLC en base a un amplio conjunto de marcadores evaluados.

Por el contrario, para el conjunto de 11 marcadores universales, la lista de todos los tratamientos por varios activos terapéuticos PD-1/PD-L1 y varias indicaciones oncológicas con las que hemos trabajado se muestra en la Lista A a continuación: - Activos PD-1 y PD-L1, como pembrolizumab, durvalumab, avelumab, atezolizumab, en melanoma, NSCLC, pulmón, CHC, vejiga, próstata, NPC, glándula parótida, sarcoma de partes blandas alveolares. El clasificador universal de 11 marcadores funciona bien en todas esas cohortes e identifica un perfil universal que proporciona una clasificación de referencia sólida para la respuesta/no respuesta, independientemente de qué tratamiento PD-1 o PD-L1 se haya utilizado exactamente y qué tipo de cáncer se haya probado exactamente. Capturamos con 11 marcadores una configuración de red sistémica epigenética propicia/no propicia muy específica de características que definen los resultados en terapias de puntos de control inmunitario.

Pasando al segundo conjunto de marcadores, un problema muy grave en la inmunoterapia contra el cáncer es la presencia constante de un subgrupo de pacientes que nunca deberían ser tratados con terapias PD-1/PD-L1. Se les llama hiperprogresores (o superprogresores), donde progresor significa progresión hacia la enfermedad. Estos pacientes reaccionan de manera muy diferente al tratamiento: la tasa de crecimiento del tumor se dispara y mueren

muy rápidamente, esencialmente en cuestión de semanas.

Los hiperprogresores pueden definirse como pacientes que responden adversamente al tratamiento inmunooncológico de punto de control inmunológico al demostrar una reducción significativa ya sea en la supervivencia libre de progresión (como una medida de supervivencia en respuesta al tratamiento farmacológico) (SSP < 60 días) o en la supervivencia general (SG < 150 días).

Los ensayos promedio demuestran que entre 8-15 % de sus pacientes presentan un perfil de superprogresor. Actualmente, no existen medios para identificar y excluir a estos pacientes para prevenir efectos adversos graves de la inmunoterapia. En la mayoría de los estudios, los hiperprogresores se clasifican dentro del grupo más grande de no respondedores, también denominados progresores/enfermedad progresiva (EP). La mayoría de los que no responden son pacientes que no se benefician de la inmunoterapia. Hoy en día, el uso de inhibidores de puntos de control está justificado por los beneficios generales entre el porcentaje de pacientes que responden a la inmunoterapia (10-70 %).

Aquí utilizamos pacientes de cohortes de inmunoterapia, centrándonos en aquellos con una SSP/SG dentro del rango de hiperprogresores y aquellos más allá de esos límites de tiempo de supervivencia (marcados con S como "Estándar" en las diapositivas y tablas). Los marcadores de hiperprogresor identifican el perfil del paciente que se prevé que muestre una SSP/SG corta tras el tratamiento. En un grupo de 32 pacientes (brazos iguales de H y S) evaluados antes del tratamiento, cuando se comparó con la SSP y la SG después del tratamiento, 11 marcadores superprogresores predijeron correctamente 15 de 17 H (sensibilidad 0,88), 14/15 (especificidad 0,93), 15/16 (VPP 0,94), 14/16 (0,875).

Estos marcadores se seleccionan específicamente para identificar y excluir a los pacientes antes del tratamiento sobre la base de una reducción grave prevista en su supervivencia como consecuencia de la inmunoterapia. Esto podría verse como un subgrupo de una cohorte más grande de pacientes que no responden y que podrían identificarse y predecirse mediante el conjunto universal de 11 marcadores.

Si bien el presente trabajo se ha llevado a cabo en pacientes con melanoma, cáncer de pulmón, carcinoma hepatocelular (cáncer de hígado), vejiga, próstata, cáncer nasal, glándula parótida (cáncer de glándulas salivales), sarcoma de partes blandas alveolares (cáncer de tejidos blandos), también se aplica a otros cánceres en los que se utilizan inhibidores de puntos de control inmunitario PD-1/PD-L1 para terapia, como cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, linfoma de Hodgkin, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer rectal y cualquier tumor sólido.

Mecanismo de detección

Los conjuntos de marcadores que se han identificado capturan una red de desregulaciones a nivel de la genómica celular 3D, que refleja una red de tipos de células desreguladas que actúan en conjunto para sostener y avanzar el fenotipo patológico o fisiológico del cáncer. Hasta ahora, al observar conformaciones cromosómicas estadísticamente significativas como evidencia de desregulación junto con los loci CD de subtipificación celular, podemos afirmar que las firmas universales observadas contienen y representan desregulaciones en células T, células NK (asesinas naturales), macrófagos, células B y células dendríticas (DC). Esto pone de relieve el papel que desempeña la configuración específica a nivel celular del sistema inmunológico adaptativo e innato en pacientes individuales como parte de la interacción cáncer-huésped, que define la progresión de la enfermedad (hiperprogresores) y la capacidad de respuesta a los inhibidores del punto de control inmunológico PD-1/PD-L1.

Procedimientos

Los estudios iniciales de interacciones cromosómicas se llevaron a cabo en las siguientes poblaciones (trabajo descrito en la Figura 1):

Lista A - Trabajo inicial

- Cohorte de melanoma de 16 anti-PD-1 (Pembrolizumab)
- Cohorte de 16 pacientes con NSCLC anti-PD-L1
- Cohorte de 99 pacientes con NSCLC anti-PD-L1
- Cohorte de 49 pacientes con NSCLC anti-PD-1
- Cohorte de 50 NSCLC con anti-PD-1 y terapia combinada
- Cohorte de melanoma de 48 anti-PD-1 (pembrolizumab), incluidos hiperprogresores

- Cáncer uretral de 550 con anti-PD-L1

Observacional Longitudinal:

5

- anti-PD-L1 (Durvalumab, Atezolizumab) y anti-PD1 (Pembrolizumab)

- Pulmón, carcinoma hepatocelular, vejiga, próstata, NPC, glándula parótida, sarcoma de partes blandas alveolares.

10

Los conjuntos de marcadores se desarrollaron utilizando los siguientes pacientes:

Capacitación de 80 pacientes, todos con NSCLC

15

Mezcla de 1L, 2L de Avelumab (54) y 2L de Pembrolizumab (36)

Prueba: 38 pacientes, todos con NSCLC

20

Mezcla de 1L, 2L de Avelumab (27) y 2L de Pembrolizumab (11)

Prueba: Mezcla de 20 muestras

Pacientes de mezcla 2L con diferentes inhibidores de puntos de control y diferentes tumores sólidos

25

Atezolizumab (7), Durvalumab (3) y Pembrolizumab (10)

Pulmón (13), NPC (2), CHC (2), vejiga (1), sarcoma alveolar (1) y glándula parótida (1)

30

Total 138 muestras.

35

Para probar los marcadores universales se recopiló una cohorte ciega para probar la característica de No Respuesta. Esta cohorte se recolectó en Malasia y estuvo compuesta por 21 pacientes que proporcionaron muestras de sangre al inicio del estudio antes de la inmunoterapia. Todos los pacientes tenían líneas de terapia previas. Se utilizaron 3 puntos de control: Atezolizumab (anti-PD-L1), Durvalumab (anti-PD-L1) y Pembrolizumab (anti-PD-1). Hubo 7 indicaciones de enfermedad: pulmón, carcinoma hepatocelular, vejiga, próstata, NPC, glándula parótida y sarcoma de partes blandas alveolares. 11 de los pacientes tenían colecciones múltiples: 2-4. 3 pacientes tenían hasta 4 colecciones. La etnia de los pacientes era china Han o indonesia.

40

La figura 4 muestra la alta concordancia entre las llamadas basales de EpiSwitch, la expresión de PD-L1 y la respuesta clínica observada.

La figura 5 muestra datos de un conjunto de entrenamiento para un modelo de 11 marcadores basado en 80 pacientes con NSCLC que son una mezcla de 1L, 2L de avelumab (54) y 2L de pembrolizumab (36).

45

La figura 6 muestra datos para un conjunto de prueba del modelo de 11 marcadores basado en 38 pacientes con NSCLC que son una mezcla de 1L, 2L de avelumab (27) y 2L de pembrolizumab (11).

Las figuras 7 y 8 muestran datos de un segundo conjunto de pruebas para el Estudio observacional de Malasia que analiza una combinación de IPC y tumores.

50

La Figura 9 muestra las llamadas de los pacientes que tuvieron múltiples colecciones. Las llamadas a lo largo de los puntos de tiempo son en gran medida consistentes y concordantes: El paciente 12 en Durvalumab muestra el perfil de Respondedor en 4 recolecciones, y una puntuación en la segunda recolección entrando en la zona gris R/NR. El perfil general de probabilidades en realidad se vuelve más fuerte con el tiempo para el Respondedor.

55

El paciente 1 con Atezolizumab muestra una interesante falta de respuesta inicial, pero se convierte en un respondedor tardío.

60

El paciente 17 con Pembrolizumab es un paciente con NPC y muestra un perfil de respuesta en ambos muestreos.

Esto resalta la capacidad de los marcadores EpiSwitch™ para encontrar pacientes que responden y que no responden para capturar características comunes del perfil de respuesta del huésped para inhibidores de múltiples puntos de control bajo diversas condiciones oncológicas.

65

La Figura 10 muestra las llamadas de EpiSwitch para pacientes muestreados en múltiples puntos de tiempo, donde OBD.261.263 y OBD.301.303 representan marcadores de respuesta universales y OBD.029.031, OBD.045.047,

ES 3 029 416 T3

OBD.645.647, OBD.753.755 y OBD.8.69.871 representan marcadores de no respuesta universales.

Para el trabajo relacionado con hiperprogresores, la Figura 11 muestra la selección de muestra con hiperprogresores seleccionados en función de tener una SSP ≤ 60 días (2 meses) y una SG ≤ 150 días (4,5 meses), el grupo de supervivencia (S) se seleccionó ya que en su mayoría todos tenían más de 1 año de SSP.

La Figura 13 muestra 11 CCS de EpiSwitch seleccionados de un total de 60, marcadores seleccionados en función de la diferencia binaria y el análisis del registro de rango de SO y PFS. También se muestran las ubicaciones genéticas asociadas. Las figuras 10 y 11 muestran un análisis de la vía de las ubicaciones genéticas.

La Figura 16 muestra datos para un conjunto de entrenamiento para hiperprogresores: un modelo de marcador XGBoost 11. La figura 17 muestra datos para una prueba para hiperprogresores con 6 muestras excluidas de la selección de marcadores. La figura 18 muestra un análisis de componentes principales logísticos (PCA) de un conjunto de entrenamiento. La figura 19 muestra un PCA logístico del conjunto de entrenamiento con muestras de prueba previstas. Este es un segundo enfoque de clasificación y está en concordancia con XGBoost. La figura 20 muestra el PCA logístico del conjunto de entrenamiento con PFS como etiqueta. La figura 21 muestra el PCA logístico del conjunto de entrenamiento con OS como etiqueta.

Enfoque para el análisis de los pacientes

Se adoptó un enfoque específico para la forma en que se analizó la población de pacientes. Las cohortes de pacientes pertinentes habían recibido una terapia previa (una ronda de quimioterapia basada en cisplatino) o habían sido tratadas únicamente con inhibidores de puntos de control. También analizamos únicamente a pacientes con una respuesta definida, es decir, respuesta completa, respuesta parcial o ninguna respuesta. Eliminamos del análisis a los pacientes que experimentaron una enfermedad estable.

La salida de datos de la plataforma PCR anidada EpiSwitch™ se analizó con múltiples técnicas estadísticas, que incluyen, pero no se limitan a, procedimientos univariados establecidos (prueba exacta de Fisher) y multivariantes (GLMNET permutado, Random Forest con valores de explicación aditivos de SHapley (SHAP)).

Para el desarrollo de los clasificadores de diagnóstico y pronóstico EpiSwitch™, se utilizó el siguiente análisis estadístico: (i) XGBoost: Un algoritmo de árbol de decisión potenciado por gradiente. Se genera un conjunto de modelos de árboles de decisión débiles y se combinan para producir un modelo de clasificación fuerte (crecimiento del árbol por niveles); (ii) Análisis de componentes principales logísticos (PCA): análisis de componentes principales optimizado para usar datos binarios; y (iii) GLMNET: modelo lineal generalizado ajustado a través de la técnica de máxima verosimilitud penalizada (iv) LightGBM: marco de refuerzo de gradiente que utiliza algoritmos de aprendizaje basados en árboles (crecimiento del árbol de hojas verticales).

A continuación se muestra un análisis SHAP para un conjunto de marcadores universales.

Marcador	Shap1	Rank_1	Shap2	Rank_2	Shap3	Rank_3	promedio
OBD117_029.031_2	0,939792	3	0,898573	5	1,210319	2	3
OBD148_045.047_1	0,516578	6	1,335644	1	1,457146	1	3
OBD148_869.871_2	0,989211	1	1,034225	3	0,942668	4	3
OBD148_929.931_2	0,971228	2	0,998071	4	1,128059	3	3
OBD148_261.263_1	0,400625	8	1,172577	2	0,681067	5	5
OBD148_753.755_2	0,798995	4	0,549536	6	0,679744	6	5
OBD148_397.399_1	0,428492	7	0,254456	11	0,567525	7	8
OBD148_645.647_4	0,675223	5	0,407179	9	0,48619	9	8
OBD148_301.303_2	0,329259	10	0,541	7	0,263039	11	9
OBD148_777.779_2	0,396967	9	0,311894	10	0,520779	8	9
OBD148_821.823_2	0,180874	11	0,461653	8	0,335826	10	10

Marcadores clasificados por sus puntuaciones SHAP, siendo el mejor marcador OBD117_029_0.31. El valor SHAP (SHapley Additive exPlanations) es un enfoque unificado para explicar el resultado de cualquier modelo de aprendizaje automático. Hay tres beneficios importantes:

La primera es la interpretabilidad global - los valores SHAP colectivos pueden mostrar cuánto contribuye cada predictor, ya sea positiva o negativamente, a la variable diana. Esto es como el gráfico de importancia variable

pero puede mostrar la relación positiva o negativa de cada variable con la diana.

El segundo beneficio es la interpretabilidad local - cada observación obtiene su propio conjunto de valores SHAP. Esto aumenta enormemente su transparencia. Podemos explicar por qué un caso recibe su predicción y las contribuciones de los predictores. Los algoritmos tradicionales de importancia variable sólo muestran los resultados de toda la población, pero no de cada caso individual. La interpretabilidad local nos permite identificar y contrastar los impactos de los factores.

En tercer lugar, los valores SHAP se pueden calcular para cualquier modelo basado en árbol (nuestro modelo es un modelo basado en árbol potenciado, XGboost), mientras que otros métodos utilizan modelos de regresión lineal o regresión logística como modelos sustitutos.

Esto representa la tubería analítica para la selección de marcadores. El alto rendimiento de los dos conjuntos de marcadores se muestra en las figuras y tablas. En particular, para el conjunto de marcadores universales, los 7 tipos de cáncer que se muestran en la Figura 3 estuvieron representados en 21 pacientes observados longitudinalmente, donde el rendimiento fue del 100 % en especificidad y valor predictivo positivo en toda la cohorte.

Ejemplo 2. Trabajo adicional que conduce al desarrollo del conjunto de marcadores que se muestra en la Tabla 8

Los inhibidores de puntos de control inmunitario son una clase de medicamentos que se dirigen a un conjunto estrecho de proteínas en una red reguladora específica presente en las células inmunitarias, como las células T y algunas células cancerosas de los pacientes. Las dianas de las proteínas de control y la red que controlan ayudan a evitar que las respuestas inmunes sean demasiado fuertes y brindan protección adicional contra las enfermedades autoinmunes, pero en el caso del cáncer pueden impedir que las células T maten a las células cancerosas. El uso de inhibidores de puntos de control inmunitario ayuda a reactivar la respuesta inmunitaria en pacientes con cáncer, con resultados eficaces y una mejor supervivencia de los pacientes.

Los inhibidores de puntos de control inmunitario actúan restableciendo y activando la respuesta inmunitaria dirigiéndose a: 1) PD-1 (Nivolumab, Pembrolizumab, Cemiplimab, Camrelizumab, Tislelizumab, Sasanlimab); o 2) el ligando PD-1, llamado PD-L1 (Avelumab, Atezolizumab y Durvalumab).

El presente trabajo ha planteado varias preguntas, incluyendo si, teniendo en cuenta el papel desempeñado por el sistema inmunológico del paciente en la respuesta exitosa a los inhibidores del punto de control inmunológico y el número limitado de objetivos para la terapia, particularmente el receptor PD-1 y su ligando PD-L1, uno puede descubrir y validar biomarcadores EpiSwitch en un formato de detección qPCR para pacientes de referencia que predecirían universalmente la respuesta/no respuesta al tratamiento por adelantado, independientemente del tipo de inhibidor del punto de control utilizado y en todo el espectro de condiciones oncológicas.

El formato qPCR compatible con MIQE es el estándar para pruebas clínicas basadas en PCR. Este formato es muy diferente del formato PCR anidado o del formato de matriz, debido a sus limitaciones en los diseños de secuencias de cebadores y sondas y el rango continuo de detección, tradicionalmente medido a través de números de ciclos de Cq.

Las siguientes etapas se llevaron a cabo como parte del descubrimiento y validación de estos biomarcadores (la tabla 9 muestra los datos de los pacientes): Etapa 1. A partir de los marcadores anteriores identificados por matrices, se identificaron los 24 marcadores principales que satisfacían las restricciones teóricas iniciales y los requisitos para los diseños de secuencias en cebadores y sondas de qPCR, es decir, secuencias únicas para la detección, temperatura de recocido correcta para cebadores y sondas, unión 3C superpuesta, para la detección de las conformaciones cromosómicas. En la etapa experimental, los diseños de 20 marcadores pasaron el control de calidad y la optimización satisfactoria en gradiente de temperatura.

Etapa 2. Se utilizaron marcadores con formato qPCR para identificar si hay un número mínimo de biomarcadores que, como firma, tendrán un fuerte poder de estratificación para predecir la respuesta y la falta de respuesta en una amplia cohorte de pacientes tratados con inhibidores de puntos de control inmunitarios: pembrolizumab, avelumab, atezolizumab, durvalumab contra cada uno de los tres objetivos (PD-1, PD-L1) de una amplia selección de afecciones oncológicas: melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, uretral, carcinoma hepatocelular, vejiga, próstata, carcinoma de células no pequeñas, glándula parótida, sarcoma de partes blandas alveolares, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma vulvar, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer de hueso, cáncer de cerebro, carcinoma del seno sagital, linfoma, cáncer de laringe, cáncer de cuello uterino, carcinoma de cavidad oral.

Etapa 3: En la pantalla 1, se evaluaron primero los 20 marcadores en plantillas de ADN agrupadas de 3 categorías de resultados clínicos de pacientes: respondedores, no respondedores y enfermedades estables. Las cohortes de muestra representaron pacientes con diversos tipos de cáncer (ver anotaciones adjuntas) que recibieron varios inhibidores de puntos de control inmunológico como monoterapias: Avelumab, Pembrolizumab, Atezolizumab y

Durvalumab.

5 Etapa 4: En la pantalla 2, los 13 marcadores principales, preseleccionados de la pantalla 1, se evaluaron en muestras individuales de los mismos pacientes utilizados en la pantalla 1: 24 pacientes/muestras en total (ver la Tabla 9, pacientes mostrados con un asterisco).

10 La selección de los mejores marcadores en la etapa 2 y 3 se realizó utilizando un modelo lineal. El modelo lineal se ajusta a los valores de Cq para cada marcador, comparando PR v PD, PR v SD y PD v SD. Los coeficientes de los modelos ajustados describen las diferencias entre los CCS en cada una de las comparaciones. Los modelos lineales se utilizan luego para calcular las probabilidades logarítmicas de las estadísticas t moderadas de los CCS diferenciales mediante la moderación bayesiana empírica de los errores estándar hacia un valor global (0 logaritmo o 1 lineal). Luego, los marcadores se clasifican según el valor p ajustado y la diferencia de abundancia de CCS entre los grupos. A los marcadores entre PR v PD se les da más peso.

15 Etapa 5: En la pantalla 3 los 8 marcadores principales (preseleccionados de la pantalla 2) se validaron en muestras de IO que consistían en pacientes con los siguientes resultados clínicos: 55% NR (no respondedores), 24% SD (enfermedad estable, de acuerdo con la norma regulatoria y la práctica clínica, SD debe estar sujeta a terapia IO al igual que el grupo de posibles respondedores), 20% R (respondedores, también denominados PR para respondedores parciales) y 1% CR (respondedores completos). La eficacia de la estratificación del modelo basado en 8 marcadores se muestra en las figuras 22 a 24. Valor predictivo (VPP) = $100 \times VP / (VP + FP)$. Valor predictivo negativo (VPN) = $100 \times TN / (FN + TN)$.

25 El clasificador de puntos de control de inmunoterapia se construye utilizando CatBoost. Catboost es un miembro de las técnicas de conjunto de aprendizaje automático de árboles de decisión potenciados por gradiente (GBDT) (véase Hancock y Khoshgoftaar; J. Big Data (2020) 7:94).

Tipos de formato para la prueba

30 Tanto los formatos anidados como los de qPCR imponen limitaciones estrictas sobre cuáles de los marcadores basados en matrices podrían traducirse con éxito a uno u otro formato. Esto es particularmente cierto en el caso del formato qPCR, donde tenemos que determinar si podemos usar dos cebadores y una sonda fluorescente sobre la unión 3C (esta es similar a la sonda de matriz), que 1) tienen una secuencia única en todo el genoma para una detección específica, 2) tienen temperaturas de hibridación muy similares, 3) muestran cómo la eficacia en la amplificación en un único procedimiento de PCR, y no en dos reacciones secuenciales como lo requiere la PCR anidada (primero con un par de cebadores, segundo con otro par de cebadores). Los requisitos para la qPCR son mucho más estrictos y selectivos.

Conclusiones

40 Con base en la evaluación mediante qPCR de 8 conformaciones de cromatina condicionales como biomarcadores reguladores basados en la sangre, se podría evaluar a los individuos para determinar la probabilidad de respuesta a monoterapias con inhibidores del punto de control inmunitario (ICI). En la interacción entre el microambiente tumoral del paciente y el sistema inmunológico del paciente, la vía PD-1, que comprende el receptor de muerte programada 1 (Pd-1) y su ligando PD-L1, media la inmunosupresión local en el microambiente tumoral. El presente trabajo se relaciona directamente con los ICI que eran antagonistas dirigidos a PD-1 (Pembrolizumab) o su ligando, PD-L1 (Atezolizumab, Avelumab y Durvalumab). La estratificación basada en un clasificador de 8 marcadores coloca a los pacientes en grupos de probables respondedores o no respondedores a la monoterapia con ICI, antes de la aplicación de la terapia. La clasificación se aplica a todas las monoterapias ICI contra PD-L1 y su ligando PD-L1, en el contexto de todas las indicaciones oncológicas utilizadas en tratamientos de monoterapia ICI.

50 Las figuras 25 a 27 describen las características de los marcadores de interacciones cromosómicas identificados. La figura 25 muestra la importancia de los marcadores en términos de su poder en el modelo. La figura 26 muestra las ubicaciones genéticas. La figura 27 muestra las vías con las que están asociados los genes. Éstas son vías implicadas en la respuesta del punto de control. Esto indica que el modelo es predictivo y cabe destacar que los marcadores dentro del modelo tienen relevancia biológica. De hecho, uno de los marcadores se encuentra entre PD-L1 y PD-L2 (q057_q059).

Tabla 1.a1

	Sonda	RP/Rsum	FC
1	PDCD1LG2_9_5495992_5498009_5563479_5572986_RR	6499	-1,13
2	MYC_8_127691489_127694045_127738939_127740424_FR	6220	1,15
3	IKBKB_8_42264241_42271203_42331044_42332799_FR	1585	1,3

ES 3 029 416 T3

	Sonda	RP/Rsum	FC
4	ORF712_9_120888366_120893320_120913546_120919710_RR	8471	1,11
5	ITK_5_157178319_157181048_157266725_157271762_RR	4605	1,15
6	IL17D_13_20664875_20671757_20688261_20691044_FF	6848	-1,1
7	IKBKB_8_42264241_42271203_42290979_42292124_FR	2465	1,25
8	IGF1R_15_98731539_98737034_98785670_98790114_FF	5450	1,15
9	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF	1727	1,29
10	TRAF2_9_136904007_136906211_136939587_136941363_RF	5090	1,16
11	ORF313_13_20664875_20671757_20695143_20698635_FF	4910	-1,16

Tabla 1.a2

	PFP	Valor P	FDR
1	0,3857	0,01934	0,188603463
2	0,3231	0,01577	0,169755579
3	0,001699	0,0000779	0,00118933
4	0,6186	0,06146	0,308076103
5	0,1332	0,003607	0,076416861
6	0,4249	0,02454	0,210154857
7	0,01154	0,0001149	0,00763801
8	0,2259	0,008388	0,12237213
9	0,002472	0,0000133	0,001705674
10	0,1832	0,005986	0,101918497
11	0,2061	0,004999	0,091747389

5 Tabla 1.a3

Secuencia de sonda	
	60 mer
1	ACAGTTATTAGAAAAATAAACATTTGGTCGAACAGCAAAGAGAAGATATTCAACTGCGA
2	AGGGAGAACAAAAGAAGTTCCATCCATCTCGACGGAGTCTCCCCGCAGGGCAGCCCCGA
3	CCACCCCCGCCCGGGGAGTCGCCCGGTTCGACCCCTGACATGGGGCTGCCTGGAGCAG
4	AGTGCTGGGTTCCACACCTCTCAGCTCTTCGACCTCCAGGTCCCCGCCACTTCCACGGC
5	CAAAATCAAACACAAATCTAATCAAACCTTCGATGTTTGGGGCGGAGGGCTTTGATGAGA
6	TTAAAGAAGCTAATTTTAAAAATAAATGTCTGAAGAGATTGTCACGTTAGAGTTATGTAAA
7	CCACCCCCGCCCGGGGAGTCGCCCGGTTCGATTTCCAAAAGCTCACACATGGGTGCACA
8	CGTAGAACTAAGATGTATTCAAAGTCAGTCGAAATCACCTGTCCCGCCTCTTTCCAAAC
9	GGGGCCTCCAGAGTCCCCTTTACAGGCATCGACGCCCCCTGCCTACCTGCCGGGTGCCCC
10	CCGCCTCACCTCCCGCATGGTCTTGAGGTTCGAGCATGCAGCGCATCTGAGCAGTGAGGCT
11	TTAAAGAAGCTAATTTTAAAAATAAATGTCTGAGGAGCATCTGGATTTAATGATAGTTCAA

Tabla 1.a4

ES 3 029 416 T3

Ubicación de la sonda					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
1	9	5495994	5496023	5563481	5563510
2	8	127694014	127694043	127738941	127738970
3	8	42271172	42271201	42331046	42331075
4	9	120888368	120888397	120913548	120913577
5	5	157178321	157178350	157266727	157266756
6	13	20671726	20671755	20691013	20691042
7	8	42271172	42271201	42290981	42291010
8	15	98737003	98737032	98790083	98790112
9	4	109703341	109703370	109741059	109741088
10	9	136904009	136904038	136941332	136941361
11	13	20671726	20671755	20698604	20698633

Tabla 1.a5

Ubicación de la secuencia de 4 kb					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
1	9	5495994	5499993	5563481	5567480
2	8	127690044	127694043	127738941	127742940
3	8	42267202	42271201	42331046	42335045
4	9	120888368	120892367	120913548	120917547
5	5	157178321	157182320	157266727	157270726
6	13	20667756	20671755	20687043	20691042
7	8	42267202	42271201	42290981	42294980
8	15	98733033	98737032	98786113	98790112
9	4	109703341	109707340	109737089	109741088
10	9	136904009	136908008	136937362	136941361
11	13	20667756	20671755	20694634	20698633

5 Tabla 1.a6

	Identificación del cebador	Secuencia del cebador	Identificación del cebador
1	OBD117_029	CTCACTGCCAACAGGCTAGAA	OBD117_031
2	OBD148_045	CCCTAAGCAACCACCTTGGACTG	OBD148_047
3	OBD148_261	CGGTGAGCACGGTCTGTCTACTT	OBD148_263
4	OBD148_301	CCCAGTTGTCCAGTTGCTGCCT	OBD148_303
5	OBD148_397	GTCTCCTGAGGTGAAGCAAGAGG	OBD148_399
6	OBD148_645	TCTCTACTTCAGGCAGGCAGTGTAAG	OBD148_647
7	OBD148_753	GGTGTAACGGGGGTCATTTC	OBD148_755
8	OBD148_777	AATTCACCACACCCCAACAT	OBD148_779
9	OBD148_821	CAGACTAAGGGGCCTCCAGA	OBD148_823
10	OBD148_869	TGAAGAAGCACTCGTCGTTG	OBD148_871

ES 3 029 416 T3

	Identificación del cebador	Secuencia del cebador	Identificación del cebador
11	OBD148_929	AGTTTTCCACCCCTTCTTCC	OBD148_931

Tabla 1.a7

	Secuencias del cebador	Marcador	Tipo
1	TCTTGACTCAGAGCCCACAACAA	OBD117_029.031	SR
2	GCTTCGCTTACCAGAGTCGCTGC	OBD148_045.047	SR
3	GTCCTGGGTCCTGGGTGAAAGTC	OBD148_261.263	R
4	TGGAGCAGAACCTGTCAGACCTG	OBD148_301.303	R
5	AGTCAGCCCCTCATCCCCTTCC	OBD148_397.399	SR
6	GGGAGACCATTCTGTTCCTCTGAG	OBD148_645.647	SR
7	TGTGGGAACCATACCTGTGC	OBD148_753.755	SR
8	CTCCGGAGGATTTCTGTGAA	OBD148_777.779	SR
9	CGCAATCAGAACCAACTGGC	OBD148_821.823	SR
10	AGCGGCACACCTCTACTCTC	OBD148_869.871	SR
11	GGGCTGTGTCCTGATAACC	OBD148_929.931	R

5 Tabla 2.a1

	sonda	RP/Rsum	FC
1	ORF479_8_81007411_81018107_81095100_81099880_FR	5655	1,14
2	ORF482_5_168579937_168582137_168614429_168620163_RR	8291	-1,11
3	PDCD1LG2_9_5495992_5498009_5563479_5572986_RR	6499	-1,13
4	IL17D_13_20664875_20671757_20688261_20691044_FF	6848	-1,1
5	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF	1727	1,29
6	ORF102_17_34316073_34325822_34367538_34373948_RF	1958	-1,26
7	TNFSF8_9_114957908_114962933_114975258_114977746_RF	8214	-1,11
8	ORF712_9_120888366_120893320_120913546_120919710_RR	8471	1,11
9	ORF698_18_62296384_62304812_62385139_62386748_FF	7473	1,12
10	ORF197_8_26561792_26565691_26638318_26644530_FR	3611	-1,2
11	IKKB8_42264241_42271203_42331044_42332799_FR	1585	1,3

Tabla 2.a2

	PFP	Valor P	FDR
1	0,252	0,01003	0,13564257
2	0,5777	0,05624	0,298153549
3	0,3857	0,01934	0,188603463
4	0,4249	0,02454	0,210154857
5	0,002472	0,0000133	0,001705674
6	0,009056	0,0000289	0,002854389

ES 3 029 416 T3

7	0,5681	0,0541	0,293528769
8	0,6186	0,06146	0,308076103
9	0,4918	0,03615	0,248717729
10	0,09085	0,0009981	0,034849498
11	0,001699	0,00000779	0,00118933

Tabla 2.a3

Secuencia de sonda	
60 mer	
1	TCAGATAAGTAACTTCCTGATAATTAECTCGATGCCAATCCACGTCATTAGATGAGGACC
2	GAATGGCCGAACAGCCATGACAGTCCTCTCGAGGCTACTGGAGTCATTGAAAAGAGGAAT
3	ACAGTTATTAGAAAAATAAACATTTGGTGAACAGCAAAGAGAAGATATTCAACTGCGA
4	TTAAAGAAGCTAATTTTAAAAATAAATGTGAAGAGATTGTCACGTTAGAGTTATGTAAA
5	GGGGCCTCCAGAGTCCCCTTTACAGGCATCGACGCCCCCTGCCTACCTGCCGGGTGCCCC
6	ATATAAATCTACTTTATAAATAAGGAAATCGAAGTATAATTCAATATACTGTCCAGTAAA
7	AGTAGTGCAATCATAGCTCACTGAAACCTCGAAAGCTAATGAGGTATGAGGGGAGAATAC
8	AGTGCTGGGTTCCACACCTCTCAGCTCTTCGACCTCCAGGTCCCCCGCCACTTCCACGGC
9	GTTGGTGAAAAAGAAAGAAATGGACTCGACCGCTACCACCCCAGCATTCCAGCAGG
10	ATAAATAGACTCCACTATGTATAATGACTCGAAATTTTGTATAAATGTGAGCTTTGAAA
11	CCACCCCGCCCCGGGGGAGTCGCCCGGTGACCCCTGACATGGGGCTGCCTGGAGCAG

5 Tabla 2.a4

Ubicación de la sonda					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
1	8	81018076	81018105	81095102	81095131
2	5	168579939	168579968	168614431	168614460
3	9	5495994	5496023	5563481	5563510
4	13	20671726	20671755	20691013	20691042
5	4	109703341	109703370	109741059	109741088
6	17	34316075	34316104	34373917	34373946
7	9	114957910	114957939	114977715	114977744
8	9	120888368	120888397	120913548	120913577
9	18	62304781	62304810	62386717	62386746
10	8	26565660	26565689	26638320	26638349
11	8	42271172	42271201	42331046	42331075

Tabla 2.a5

Ubicación de la secuencia de 4 kb					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
1	8	81014106	81018105	81095102	81099101
2	5	168579939	168583938	168614431	168618430

ES 3 029 416 T3

Ubicación de la secuencia de 4 kb					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
3	9	5495994	5499993	5563481	5567480
4	13	20667756	20671755	20687043	20691042
5	4	109703341	109707340	109737089	109741088
6	17	34316075	34320074	34369947	34373946
7	9	114957910	114961909	114973745	114977744
8	9	120888368	120892367	120913548	120917547
9	18	62300811	62304810	62382747	62386746
10	8	26561690	26565689	26638320	26642319
11	8	42267202	42271201	42331046	42335045

Tabla 2.a6

Identificación del cebador	Secuencia del cebador	Identificación del cebador	Secuencia del cebador
1 OBD148_105	GGACAGCCACTACTCAACCTTTTCT	OBD148_107	AAATGCTGGGCTGCTCTTTTGTCTC
2 OBD148_689	CCGACCCTAACATTCAGGGTGTCT	OBD148_671	CCACTTCATTTCATCCCTACTGCCAC
3 OBD117_029	CTCACTGCCCAACAGGCTAGAA	OBD117_031	TCTTGACTCAGAGCCCAACAACAA
4 OBD148_645	TCTCTACTTCAGGCCAGGCAGTGTAA	OBD148_647	GGGAGACCATTCTGTTCAGCTGTGAG
5 OBD148_821	CAGACTAAGGGGCTCCAGA	OBD148_823	CGCAATCAGAACCCTGCTGTC
6 OBD148_893	ACTTGTGGCTTCTTAGCCC	OBD148_895	TGCTTTCAGGGTATGGACATC
7 OBD148_917	TTGCTTGTGAGTTTGATGCAG	OBD148_919	AAGCCAAATGGGCTTAGGCCA
8 OBD148_301	CCGAGTTGTCCAGGTTGCTGCCT	OBD148_303	TGGAGCAGAACCTGTGAGACCTG
9 OBD148_505	TGTGTTTATCCCTACAGAGCAGGTT	OBD148_507	TGAGCACTGGTCCCGGCAAAATACTG
10 OBD148_661	GATGCTGCTGGTGAGAGTAGTCC	OBD148_663	CATTACTACTCCTCCAGGGCAGG
11 OBD148_261	CCGTGAGCCACGGTGTGTACTTT	OBD148_263	GTCCTGGGTCCTGGGTGAAAGTC

Tabla 2.a7

	Sonda	Marcador	Tipo
1	ORF479_8_81007411_81018107_81095100_81099880_FR	OBD148_105.107	S
2	ORF482_5_168579937_168582137_168614429_168620163_RR	OBD148_669.671	H
3	PDCD1LG2_9_5495992_5498009_5563479_5572986_RR	OBD117_029.031	H
4	IL17D_13_20664875_20671757_20688261_20691044_FF	OBD148_645.647	H
5	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF	OBD148_821.823	S

ES 3 029 416 T3

	Sonda	Marcador	Tipo
6	ORF102_17_34316073_34325822_34367538_34373948_RF	OBD148_893.895	S
7	TNFSF8_9_114957908_114962933_114975258_114977746_RF	OBD148_917.919	S
8	ORF712_9_120888366_120893320_120913546_120919710_RR	OBD148_301.303	S
9	ORF698_18_62296384_62304812_62385139_62386748_FF	OBD148_505.507	S
10	ORF197_8_26561792_26565691_26638318_26644530_FR	OBD148_661.663	S
11	IKKBK_8_42264241_42271203_42331044_42332799_FR	OBD148_261.263	S

Tabla 3

Moléculas de puntos de control estimulantes	Moléculas de puntos de control inhibitorios
CD27	A2AR
CD28	B7-H3
CD40	B7-H4
CD122	CTLA-4
CD137	IDO
OX40	KIR
GITR	LAG3
ICOS	PD-1
	TIM-3
	VISTA

5 Tabla 4. Combinaciones en inmunoterapia contra el cáncer (biológicos, inmunocitocinas (L19-IL2 y L19-TNF), citotóxicos (Paxlitaxel)

Fármaco	dianas	Enfermedad preferida
Ipilimumab & Nivolumab	PD-1 y CTLA-4	melanoma metastásico
Paclitaxel, ipilimumab y carboplatino	CTLA4	Carcinoma pulmonar no microcítico
Ipilimumab & GVAX	CTLA-4	cáncer de páncreas
Pidilizumab & rituximab	PD-1	neoplasias hematológicas
L19-IL2 & L19-TNF	STAT	Melanoma
MEDI0680 & Durvalumab	PD1/PDL1	Neoplasias malignas sólidas avanzadas

10 Tabla 5. Otras moléculas individuales, inmunocitocinas y productos biológicos para la terapia del cáncer

Fármaco	dianas	Cáncer preferido
CA-170 (molécula pequeña)	PD1-PDL1 y VISTA	Tumor sólido avanzado y linfoma
Ruxolitinib (molécula pequeña)	JAK	mielofibrosis y mieloma múltiple
Tofacitinib (molécula pequeña)	JAK	enfermedad autoinmune
Galiellelactona (molécula pequeña)	STAT3	cáncer de próstata
Ipilimumab (anticuerpo monoclonal)	CTLA4	melanoma, próstata
L19-IL2 (inmunocitocina)	STAT	melanoma, cáncer de páncreas, CCR

ES 3 029 416 T3

Fármaco	dianas	Cáncer preferido
L19-TNF (inmunocitocina)	STAT	Melanoma
Tremelimumab (anticuerpo monoclonal)	CTLA4	Mesotelioma
Nivolumab (ditto)	PD1	melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células renales y otros tumores sólidos
Pembrolizumab	PD1	melanoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma de células renales y otros tumores sólidos
Pidilizumab	PD1	neoplasias hematológicas
BMS935559	PD-L1	variedad de tumores sólidos
GVAXMPDL3280A	PD-L1	cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello y neoplasias malignas gastrointestinales
MEDI4736	PD-L1	cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello y neoplasias malignas gastrointestinales
MSB0010718C	PD-L1	cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello y neoplasias malignas gastrointestinales
MDX-1105/BMS-936559	PD-L1	Cáncer
AMP-224	PD1	cáncer colorrectal
MEDI0680	PD1	tumores sólidos avanzados
Durvalumab	PDL1	carcinoma pulmonar no microcítico
Atezolizumab	PDL1	carcinoma urotelial avanzado o metastásico
Avelumab	PDL1	carcinoma metastásico de células de Merkel

Tabla 6

Fármaco	Dianas
Alemtuzumab (anticuerpo monoclonal).	CD52
Ofatumumab (anticuerpo IgG1 humano de segunda generación).	CD20
Doxorrubicina liposomal pegilada (PLD) más motolimod (VTX2337).	
Sipuleuceel-T (vacuna aprobada contra el cáncer).	
Rituximab (anticuerpo monoclonal).	CD20
Interferón gamma	
Ablación combinatoria e inmunoterapia.	
Polisacárido-K	
Terapia celular adoptiva	
Anticuerpos anti-CD47.	CD47
Oligonucleótidos de Hoogsteen inversos de polipurina (PPRH).	
Anticuerpos anti-GD2.	GD2
BGB-A317 (anticuerpo monoclonal).	Inhibidor de PD-1
Affimer bioterapéutico.	Inhibidor de PD-L1
Polisacáridos	
Neoantígenos	

5 Tabla 7a

ES 3 029 416 T3

	Sonda	RP/Rsum	FC
1	PDCD1LG2_S_5495992_5498009_5563479_5572586_RR	6499	-1,13
2	MYC_8_127691489_127694045_127738939_127740424_FR	6220	1,15
3	IKBKB_8_42264241_42271203_42331044_42332799_FR	1585	1,3
4	ORF712_9_120888366_120893320_120913546_120919710_RR	8471	1,11
5	ITK_5_157178319_157181048_157266725_157271762_RR	4605	1,15
6	IL17D_13_20664875_20671757_20688261_20691044_FF	6848	-1,1
7	IKBKB_8_42264241_42271203_42290979_42292124_FR	2465	1,25
8	IGF1R_15_98731539_98737034_98785670_98790114_FF	5450	1,15
9	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF	1727	1,29
10	TRAF2_9_136904007_136906211_136939587_136941363_RF	5090	1,16
11	ORF313_13_20664875_20671757_20695143_20698635_FF	4910	-1,16
12	ORF479_8_81007411_81018107_81095100_81099880_FR	5655	1,14
13	ORF482_5_168579937_168582137_168614429_168620163_RR	8291	-1,11
14	ORF102_17_34316073_34325822_34367538_34373948_RF	1958	-1,26
15	TNFSF8_9_114957908_114962933_114975258_114977746_RF	8214	-1,11
16	ORF698_18_62296384_62304812_62385139_62386748_FF	7473	1,12
17	ORF197_8_26561792_26565691_26638318_26644530_FR	3611	-1,2
18	ORF243_1_161633494_161637462_161657362_161661864_RF	1345	1,16
19	ORF313_13_20664875_20671757_20737979_20744490_FR	2891	1,2
20	ORF369_13_46087370_46090583_46186579_46193039_RF	2719	1,11
21	ORF480_11_77430379_77437843_77514783_77519103_RF	3101	-1,1
22	ORF698_18_62330039_62332469_62356961_62362521_FR	6988	-1,28
23	ORF703_1_6461604_6466207_6514024_6515315_FR	1109	-1,25
24	ORF705_9_114855753_114859111_114920994_114929419_FR	898	-1,16

Tabla 7b

	PFP	Valor P	FDR
1	0,3857	0,01934	0,188603463
2	0,3231	0,01577	0,169755579
3	0,001699	0,00000779	0,00118933
4	0,6186	0,06146	0,308076103
5	0,1332	0,003607	0,076416861
6	0,4249	0,02454	0,210154857
7	0,01154	0,0001149	0,00763801
8	0,2259	0,008388	0,12237213
9	0,002472	0,0000133	0,001705674
10	0,1832	0,005986	0,101918497
11	0,2061	0,004999	0,091747389
12	0,252	0,01003	0,13564257
13	0,5777	0,05624	0,298153549

ES 3 029 416 T3

	PFP	Valor P	FDR
14	0,009056	0,0000289	0,002854389
15	0,5681	0,0541	0,293528769
16	0,4918	0,03615	0,248717729
17	0,09085	0,0009981	0,034849498
18	0,001212	6,11E-06	0,000216321
19	0,0315	0,000344332	0,002847073
20	0,031	0,000300988	0,002596993
21	0,04015	0,000446091	0,003407902
22	0,4301	0,026579755	0,067536623
23	0,000988	5,35E-07	6,03E-05
24	0,000547	2,59E-07	4,28E-05

Tabla 7c

Secuencia de sonda	
60 mer	
1	ACAGTTATTAGAAAAATAAACATTTGGTCGAACAGCAAAGAGAAGATATTCAACTGCGA
2	AGGGAGAACAAAAGAAGTTCATCCATCTCGACGGAGTCTCCCCGCAGGGCAGCCCCGA
3	CCACCCCCGCCCCGGGGAGTCGCCCGGTGACCCCTGACATGGGGCTGCCTGGAGCAG
4	AGTGCTGGGTTCCACACCTCTCAGCTCTTCGACCTCCAGGTCCCCGCCACTTCCACGGC
5	CAAAATCAAACACAAATCTAATCAAACCTTCGATGTTGGGGCGGAGGGCTTTGATGAGA
6	TTAAAGAAGCTAATTTTAAAATAAATGTGCAAGAGATTGTCACGTTAGAGTTATGTA
7	CCACCCCCGCCCCGGGGAGTCGCCCGGTGATTTCCAAAAGCTCACACATGGGTGCACA
8	CGTAGAACTAAGATGTATTCAAAGTCAGTCGAAATCACCTGTCCCGCCTCTTTCCAAAC
9	GGGGCCTCCAGAGTCCCCTTTACAGGCATCGACGCCCTGCTACCTGCCGGGTGCCCC
10	CCGCCTCACCTCCCGCATGGTCTTGAGGTGAGCATGCAGCGCATCTGAGCAGTGAGGCT
11	TTAAAGAAGCTAATTTTAAAATAAATGTGCAAGGAGCATCTGGATTTAATGATAGTTCAA
12	TCAGATAAGTAACTTCTGATAATTAACCTCGATGCCAATCCACGTCATTAGATGAGGACC
13	GAATGGCCGAACAGCCATGACAGTCTCTCGAGGCTACTGGAGTCATTGAAAAGAGGAAT
14	ATATAAATCTACTTTATAAATAAGGAAATCGAAGTATAATTCAATATACTGTCCAGTAA
15	AGTAGTGCAATCATAGCTCACTGAAACCTCGAAAGCTAATGAGGTATGAGGGGAGAATAC
16	GTTGGTGAAAAAGAAAGAAGAAATGGACTCGACCGCTACCACCCAGCATTTCAGCAGG
17	ATAAATAGACTCCACTATGTATAATGACTCGAAATTTGCTATAAATGTGAGCTTTGAA
18	AAAGCACGCGTCAGAGTGGGTGGGGCTGTCGATTGTCATCCTCTAGGACTTACAGTTTCT
19	TTAAAGAAGCTAATTTTAAAATAAATGTGCAATTACTTTAAATTAATACAAGCCCCTA
20	AGGAGGGAGAAAAGTGATGAAGGCCATTTTCGAGATGGGTGCCTGGGTGAGAATTTAATA
21	TAACAAAAGTAACACCTCTTTGGTATCATCGAAGAGTCCTTGTTCCATTTTGCCCCAGT
22	GAGAATCAATTCCATTTTAAAGCTTAGTCGATTTTGAGGGCTTCTACAACCTTAGATT
23	CCGCGCCCGCAGGGCCCGCCCCGCGCCGTGAGAAGCATAAAGCAGGGACAGGTATGGAG
24	TTCAGTGTGCCTTTTGTGTCATTATATCGAGTAATACTGACACTCCTGGCCACAGAA

5 Tabla 7d

ES 3 029 416 T3

Ubicación de la sonda					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
1	9	5495994	5496023	5563481	5563510
2	8	127694014	127694043	127738941	127738970
3	8	42271172	42271201	42331046	42331075
4	9	120888368	120888397	120913548	120913577
5	5	157178321	157178350	157266727	157266756
6	13	20671726	20671755	20691013	20691042
7	8	42271172	42271201	42290981	42291010
8	15	98737003	98737032	98790083	98790112
9	4	109703341	109703370	109741059	109741088
10	9	136904009	136904038	136941332	136941361
11	13	20671726	20671755	20698604	20698633
12	8	81018076	81018105	81095102	81095131
13	5	168579939	168579968	168614431	168614460
14	17	34316075	34316104	34373917	34373946
15	9	114957910	114957939	114977715	114977744
16	18	62304781	62304810	62386717	62386746
17	8	26565660	26565689	26638320	26638349
18	1	161633496	161633525	161661833	161661862
19	13	20671726	20671755	20737981	20738010
20	13	46087372	46087401	46193008	46193037
21	11	77430381	77430410	77519072	77519101
22	18	62332438	62332467	62356963	62356992
23	1	6466176	6466205	6514026	6514055
24	9	114859080	114859109	114920996	114921025

Tabla 7e

Ubicación de la secuencia de 4 kb					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
1	9	5495994	5499993	5563481	5567480
2	8	127690044	127694043	127738941	127742940
3	8	42267202	42271201	42331046	42335045
4	9	120888368	120892367	120913548	120917547
5	5	157178321	157182320	157266727	157270726
6	13	20667756	20671755	20687043	20691042
7	8	42267202	42271201	42290981	42294980
8	15	98733033	98737032	98786113	98790112
9	4	109703341	109707340	109737089	109741088
10	9	136904009	136908008	136937362	136941361
11	13	20667756	20671755	20694634	20698633

ES 3 029 416 T3

Ubicación de la secuencia de 4 kb					
	Cr.	Inicio1	Fin1	Inicio2	Fin2
12	8	81014106	81018105	81095102	81099101
13	5	168579939	168583938	168614431	168618430
14	17	34316075	34320074	34369947	34373946
15	9	114957910	114961909	114973745	114977744
16	18	62300811	62304810	62382747	62386746
17	8	26561690	26565689	26638320	26642319
18	1	161633496	161637495	161657863	161661862
19	13	20667756	20671755	20737981	20741980
20	13	46087372	46091371	46189038	46193037
21	11	77430381	77434380	77515102	77519101
22	18	62328468	62332467	62356963	62360962
23	1	6462206	6466205	6514026	6518025
24	9	114855110	114859109	114920996	114924995

Tabla 7f

	Sonda	ID del cebador
1	PDCD1LG2_S_5495992_5498009_5563479_5572586_RR	OBD189-q057
2	MYC_8_127691489_127694045_127738939_127740424_FR	OBD189-q013
3	IKBKB_8_42264241_42271203_42331044_42332799_FR	OBD148-q261
4	ORF712_9_120888366_120893320_120913546_120919710_RR	OBD189-q017
5	ITK_5_157178319_157181048_157266725_157271762_RR	OBD189-q065
6	IL17D_13_20664875_20671757_20688261_20691044_FF	OBD189-q077
7	IKBKB_8_42264241_42271203_42290979_42292124_FR	OBD189-q025
8	IGF1R_15_98731539_98737034_98785670_98790114_FF	OBD189-q001
9	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF	OBD189-q005
10	TRAF2_S_136504007_1365906211_136939587_136941363_RF	OBD189-q009
11	ORF313_13_20664875_20671757_20695143_20698635_FF	OBD189-q081
12	ORF479_8_81007411_81018107_81095100_81099880_FR	OBD189-q061
13	ORF482_5_168579937_168582137_168614429_168620163_RR	OBD189-q021
14	ORF102_17_34316073_34325822_34367538_34373948_RF	OBD148-q893
15	TNFSF8_9_114957908_114962933_114975258_114977746_RF	OBD148-q917
16	ORF698_18_62296384_62304812_62385139_62386748_FF	OBD189-q045
17	ORF197_8_26561792_26565691_26638318_26644530_FR	OBD189-q069
18	ORF243_1_161633494_161637462_161657362_161661864_RF	OBD189-q041
19	ORF313_13_20664875_20671757_20737979_20744490_FR	OBD189-q073
20	ORF369_13_46087370_46090583_46186579_46193039_RF	OBD189-q053
21	ORF480_11_77430379_77437843_77514783_77519103_RF	OBD189-q033
22	ORF698_18_62330039_62332469_62356961_62362521_FR	OBD189-q037
23	ORF703_1_6461604_6466207_6514024_6515315_FR	OBD189-q029

ES 3 029 416 T3

	Sonda	ID del cebador
24	ORF705_9_114855753_114859111_114920994_114929419_FR	OBD189-q049

Tabla 7g

	Secuencia del cebador	ID del cebador
1	GAGGGTCACTCACTGCCCAACAGGC	OBD189-q059
2	GTCACCTTCATCTCCTTCTCACAGCAG	OBD189-q015
3	CGGTGAGCACGGTCTGTCTACTT	OBD148-q263
4	CCCAGTTGTCCAGGTTGCTGCCT	OBD189-q019
5	TGTATGTCTCCTGAGGTGAAGCAAGAGG	OBD189-q067
6	GGAAGTGCCACGAGAAGGAGGATGGTCC	OBD189-q079
7	GGTGAGCACGGTCTGTCTACTTTCCC	OBD189-q027
8	GGCTGGTGGGAGTATTTTCAAAGAGAAC	OBD189-q003
9	CCCCAACTCACAAACCCCCAGAC	OBD189-q007
10	AGCACTCGTCGTTGGGCGTGTAG	OBD189-q011
11	GAAGTGCCACGAGAAGGAGGATGGTCC	OBD189-q083
12	TGGACAGCCACTACTCAACCTTTTCCTA	OBD189-q063
13	CCGACCCTAACATTCAAGGTGTCTCTAT	OBD189-q023
14	ACTTGTGGCTTCCTTAGCCC	OBD148-q895
15	TTGCTTGTGAGTTTGATGCAG	OBD148-q919
16	CATAGACCCAGGTGTGCTCCGTGGCAGC	OBD189-q047
17	CAGTATGAGTGTTCTGTGGCTGCTCCCA	OBD189-q071
18	TTGCCACCTGTCTCAGATACCCTTGTT	OBD189-q043
19	GGAAGTGCCACGAGAAGGAGGATGGTCC	OBD189-q075
20	TAGAAGCAGGGAGTAGTTGAGCAATGGG	OBD189-q055
21	CATAACCACACTGCTACCAACACACCTA	OBD189-q035
22	CCTACTGGCACCCTGTGTTGGCTGG	OBD189-q039
23	TGCCCGTCGTGGTTCCGCCTTCA	OBD189-q031
24	CCATTGTTGCTCAGGCTGCCCTCTTGC	OBD189-q051

5 Tabla 7h

	Secuencia del cebador	ID de la sonda
1	GACTGTAAGGTAGAAATCCTGCCTGGGT	OBD189-p057
2	GCTTCGCTTACCAGAGTCGCTGC	OBD189-p013
3	GTCCCTGGGTCTGGGTGAAAGTC	OBD148-p261
4	CCTGGAGCAGAACCTGTCAGACC	OBD189-p017
5	CTTCCACCGTGCCCGCAGCCAGC	OBD189-p065
6	CCACCCAGTTCCTCCAGGCATAGCAGG	OBD189-p077
7	GGACCCAGGCTCTGCTGCTACAG	OBD189-p025
8	GCTCTGTTCAAGTGGCTCTGTTCCA	OBD189-p001
9	AGAGGAGGGCAAGGTGTCTGGCT	OBD189-p005

ES 3 029 416 T3

	Secuencia del cebador	ID de la sonda
10	CGGCACACCTCTACTCTCAGCCT	OBD189-p009
11	GGGCTGTGTCCTGATAAACCCATTGTTA	OBD189-p081
12	CAAACCCAGATTGGACCTCACAGCCCC	OBD189-p061
13	GAGTCAGCGTGTAGTGCTCCAC	OBD189-p021
14	TCCTTTGCAGGTATGGACATC	OBD148-p893
15	AAGCCAAATGGGCCTAGCCA	OBD148-p917
16	GAGCACTGGTTCCCCGCAAATACTGGG	OBD189-p045
17	GCGTGTCTCTCAGGGAAGGCAGGATGC	OBD189-p069
18	GCTGCTCCTTTGCCTGGAATGCCTATT	OBD189-p041
19	GGTAAGATGAGGCTGTGGCAAGGAGC	OBD189-p073
20	TCTTCACTTGTGCTATTGGCTTTCCAGC	OBD189-p053
21	CTGGTTATTCGGACACTCATAGGACTGG	OBD189-p033
22	TATCATAATCAGGCAACTGGCTGGTGC	OBD189-p037
23	AGAGACCCACCCAGCCTCCTGA	OBD189-p029
24	GCATTCAAGTGACAGAGAGAAAAGAGGC	OBD189-p049

Tabla 7i

	Secuencia de sonda	ID de la sonda
1	ACATTTGGTCGAACAGCAAAGAGAAGATATTCAAC	OBD189-p059
2	AGAAGTTCCATCCATCTCGACGGAGTCCTCCC	OBD189-p015
3	TCGCCCCGGTCGACCCCTGACATGG	OBD148-p263
4	TTCCACACCTCTCAGCTCTTCGACCTCCAGGT	OBD189-p019
5	AACACAAATCTAATCAAACCTTCGATGTTTGGG	OBD189-p067
6	TAAATGTCTGAAGAGATTGTCACGTTAGAGTTATG	OBD189-p079
7	TCGCCCCGGTCGATTTCCAAAAGCTCACACATGG	OBD189-p027
8	TCAAAGTCAGTCGAAATCACCTGTCCCGGCCTC	OBD189-p003
9	TCCAGAGTCCCCTTTACAGGCATCGACGCC	OBD189-p007
10	ATGGTCTTGAGGTCGAGCATGCAGCGCATCTG	OBD189-p011
11	ATAAATGTCTGAGGAGCATCTGGATTTAATGATAG	OBD189-p083
12	ACTTCCTGATAATTAACCTCGATGCCAATCCACGTC	OBD189-p063
13	AACAGCCATGACAGTCCTCTCGAGGCTACTGG	OBD189-p023
14	TAAGGAAATCGAAGTATAATTCAATATACTGTCCA	OBD148-p895
15	TGAAACCTCGAAAGCTAATGAGGTATGA	OBD148-p919
16	AGAAGAAATGGACTCGACCGCTACCACCCAG	OBD189-p047
17	AGACTCCACTATGTATAATGACTCGAAATTTTGC	OBD189-p071
18	TCAGAGTGGGTGGGGCTGTCGATTGTCATCCT	OBD189-p043
19	TAAATGTCTGAAATTACTTTAAATTAATACAAGCCC	OBD189-p075
20	AGTGATGAAGGCCATTTTCGAGATGGGTGCCTGG	OBD189-p055
21	ACCTCTTTGGTATCATCGAAGAGTCCTTGTTC	OBD189-p035
22	AAGCTTAGTCGATTTTGAGGGCTTCTCACAACCTC	OBD189-p039

Tabla 7j

Secuencia de sonda	Sonda
TGAATATCTTCCTCTGCTGTTCCGACCAATGTT	PDCD11G2_9_5495992_5498009_5563479_5573986_RR
TCCGTCCGAGATGGATGGAACCTCTTTGTTCTCCC	MVC_8_127891489_127694045_127738939_127740424_FR
CCATGTCAGGGGGTCCGACCGGGGGA	IKKB8_8_42264241_42271203_42331044_42332798_FR
ACCTGGAGGTCGAAGAGCTGAGAGGTGTGGAA	ORF712_9_120866366_120899320_120913546_120919710_RR
AACATCGAAGTTTGATTAAGTATGTTGTTGATT	HK_5_157178319_157181048_157366725_157271762_RR
ACTCTAACCGTGACAATCTCTCGACATTAATTT	IL17D_13_20664675_20671757_20688261_20691044_FF
TGTGAGCTTTTGGAAATCGACCGGGGACTCC	IKKB8_8_42264241_42271203_42290879_42292124_FR
AGAGCCGGGACAGGGTGAATTCGACTGACTTTG	IGF1R_15_96731539_98737034_98785670_98790114_FF
GGCGTCCGATCCCTGTAAAAGGGGACTCTGGA	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF
AGATGGCTGCATGCTCGACCTCAAGACCAATG	TRAF2_9_136904007_136906211_136939587_136943363_RF
ACTATCAATTAATCCAGATGCTCTCGACATTTA	ORF313_13_20664675_20671757_20688143_20688635_FF
TGACGTGGATTCCGATCGAGTTAATTAATCAGGAAAG	ORF479_8_81007411_81018107_81095100_81099890_FR
AGTAGCCCTCGAGAGGACTGTCAITGGCTGTCC	ORF482_5_168579937_168582137_168614429_168620163_RR
TGGACAGTATATGAATTAATTAATTAATTCCTTA	ORF102_17_34316073_34325822_34367538_34373948_RF
TCATACCTCAITAGCTTCGAGGTTTCA	TMFSF8_9_114957908_114962933_114975258_114977746_RF
TGGTAGCGGTCGAGTCCCAITTCCTTCTTCTTT	ORF698_18_62296384_62304812_62388129_62388748_FF
AGCAAAATTCGAGTCAITATACATAGTGGAGTC	ORF197_6_26561792_26565691_26638318_26644530_FR
AGGATGACAATCGACAGCCCCACCCACTCTGA	ORF243_1_161633494_161637462_161657362_161661884_RF
GGGCTTGATTAATTAAGTAAATTCGACATTTA	ORF313_13_20664675_20671757_20737979_20744490_FR
ACCCAGGCCACCCATCTCGAAATGGCCCTTCATCA	ORF389_13_46887376_46890583_46188579_46193039_RF
TGGG4ACAAGGACTGTTCCGATGATACCAAGAGGG	ORF480_11_77430379_77437643_77514763_77519103_RF
AGAGTTGTGAGAAGCCCTCAAAATCGACTAAGC	ORF698_18_62330039_62332469_62356961_62362521_FR
TGTCCTGCTTATGCTTCGACGGGCGG	ORF703_1_6461604_6466207_6514024_6515315_FR
TGGCCAGGAGTGTGAGTATTACTCGATATAAT	ORF705_9_114855753_114859111_114920994_114929419_FR

	Secuencia de sonda	ID de la sonda
23	CGCGCCGTCGAGAAGCATAAAGCAGGGACA	OBD189-p031
24	TCATTATATCGAGTAATACTGACACTCCTGGCCC	OBD189-p051

Tabla 7k

ES 3 029 416 T3

	Marcador	Tipo
1	OBD189-q057.q059.p057	Inhibidor del punto de control del no respondedor
2	OBD189-q013.q015.p013	Inhibidor de punto de control del respondedor
3	OBD148-q261.q263.p261	Inhibidor de punto de control del respondedor
4	OBD189-q017.q019.p017	Inhibidor de punto de control del respondedor
5	OBD189-q065.q067.p065	Inhibidor de punto de control del respondedor
6	OBD189-q077.q079.p077	Inhibidor del punto de control del no respondedor
7	OBD189-q025.q027.p025	Inhibidor de punto de control del respondedor
8	OBD189-q001.q003.p003	Inhibidor de punto de control del respondedor
9	OBD189-q005.q007.p005	Inhibidor de punto de control del respondedor
10	OBD189-q009.q011.p009	Inhibidor de punto de control del respondedor
11	OBD189-q081.q083.p081	Inhibidor del punto de control del no respondedor
12	OBD189-q061.q063.p061	Inhibidor de punto de control del respondedor
13	OBD189-q021.q023.p021	Inhibidor del punto de control del no respondedor
14	OBD148-q0893.q0895.p0893	Inhibidor del punto de control del no respondedor
15	OBD148-q917.q919.p917	Inhibidor del punto de control del no respondedor
16	OBD189-q045.q047.p045	Inhibidor de punto de control del respondedor
17	OBD189-q069.q071.p069	Inhibidor del punto de control del no respondedor
18	OBD189-q041.q043.p043	Inhibidor del punto de control del no respondedor
19	OBD189-q073.q075.p073	Inhibidor del punto de control del no respondedor
20	OBD189-q053.q055.p053	Inhibidor del punto de control del no respondedor
21	OBD189-q033.q035.p033	Inhibidor de punto de control del respondedor
22	OBD189-q037.q039.p037	Inhibidor de punto de control del respondedor
23	OBD189-q029.q031.p031	Inhibidor de punto de control del respondedor
24	OBD189-q049.q051.p049	Inhibidor de punto de control del respondedor

Tabla 8a

	Sonda	Marcador
1	PDCD1LG2_9_5495992_5498009_5563479_5572986_RR	OBD189-q057.q059.p057
2	ITK_5_157178319_157181048_157266725_157271762_RR	OBD189-q065.q067.p065
3	CASP6_4_109703339_109705583_109735036_109741090_RF	OBD189-q005.q007.p005
4	ORF313_13_20664875_20671757_20695143_20698635_FF	OBD189-q081.q083.p081
5	ORF102_17_34316073_34325822_34367538_34373948_RF	OBD148-q0893.q0895.p0893
6	ORF369_13_46087370_46090583_46186579_46193039_RF	OBD189-q053.q055.p053
7	ORF703_1_6461604_6466207_6514024_6515315_FR	OBD189-q029.q031.p031
8	ORF705_9_114855753_114859111_114920994_114929419_FR	OBD189-q049.q051.p049

5 Tabla 8b

	ID del cebador	Secuencia del cebador	ID del cebador
1	OBD189-q057	GAGGGTCACTCACTGCCCAACAGGC	OBD189-q059
2	OBD189-q065	TGTATGTCTCCTGAGGTGAAGCAAGAGG	OBD189-q067

ES 3 029 416 T3

	ID del cebador	Secuencia del cebador	ID del cebador
3	OBD189-q005	CCCCAACTCACAACACCCCAGAC	OBD189-q007
4	OBD189-q081	GAAGTGCCACGAGAAGGAGGATGGTCC	OBD189-q083
5	OBD148-q893	ACTTGTGGCTTCCTTAGCCC	OBD148-q895
6	OBD189-q053	TAGAAGCAGGGAGTAGTTGAGCAATGGG	OBD189-q055
7	OBD189-q029	TGCCCGTCGTGGTTCCGCCTTCA	OBD189-q031
8	OBD189-q049	CCATTGTTGCTCAGGCTGCCCTCTTGC	OBD189-q051

Tabla 8c

	Secuencia del cebador	ID de la sonda	Secuencia de sonda
1	GACTGTAAGGTAGAAATCCGCTGGGT	OBD189-p057	ACATTTGGTCGAACACAGCAAAGAGAAGATTC AAC
2	CTTCCACCGTGCCCGCAGCCAGC	OBD189-p065	AACACAAATCTAATCAAACCTTCGATGTTGGG
3	AGAGGAGGGCAAGGTGTCTGGCT	OBD189-p005	TCCAGAGTCCCCTTTACAGGCCATCGACGCC
4	GGGCTGTCTCTGATAAACCCCATTTGTA	OBD189-p081	ATAAATGTCCGAGGGAGCACTGGATTTAATGATAG
5	TCCTTTGCAGGTATGGACATC	OBD148-p893	TAAGGAAATCGAAGTATAATTC AATATACTGTCCA
6	TCTTCACTTGTGCTATGGCTTCCAGC	OBD189-p053	AGTGATGAAGGCCCATTCGAGATGGGTGCCTGG
7	AGAGACCCACCCAGCCTCCTGA	OBD189-p031	TGTCCCTGCTTATGCTTCTCGACGGGGCGG
8	GCATTC AAGTGACAGAGAGAAAAGAGGC	OBD189-p049	TCATTTATTCGAGTAATACTGACACTCCTGGCCC

Tabla 9.1

ES 3 029 416 T3

		Inicio
	ID de muestras de paciente	Diagnóstico clínico
1	IOMA1002 *	Carcinoma hepatocelular (hígado) (HCC)
2	IOMA1004	Glándula parótida CA
3	IOMA1007	Sarcoma alveolar de partes blandas de la región glútea
4	IOMA1008-B	Hígado CA - Carcinoma hepatocelular
5	IOMA1009-B	NPC Ca
6	IOMP1002	NPC, Cáncer gástrico
7	IOMP1005	T3N3M0 Carcinoma nasofaríngeo
8	IOMP1006	Carcinoma nasofaríngeo - metastásico
9	IOMP1007	Vejiga CA
10	IOMP1009	
11	IOMP1010	carcinoma metastásico de próstata
12	IOMP1011	NPC
13	NIOA1001-B	Laringe Ca
14	NIOA1003 (OBDM-0770) *	Pulmón Ca
15	NIOA1004	NPC
16	NIOA1005	Tumor neuroendocrino de células pequeñas del estómago
17	NIOA1006 (OBDM-094)	Carcinoma de pulmón de células pequeñas
18	NIOA1007	Carcinoma linfoepitelial de la glándula lagrimal
19	NIOA1008	CHC de hígado
20	NIOA1009 (OBDM-082)	Carcinoma pulmonar metastásico
21	NIOA1010	CHC
22	NIOA1011	NPC
23	NIOA1012	Carcinoma de pulmón
24	NIOA1013	Carcinoma de mama invasivo, metastásico de alto grado
25	NIOA1014	Tumor neuroendocrino metastásico de alto grado
26	NIOA1015	Cáncer de pulmón de células pequeñas con TTF-1/CD56+
27	NIOA1016	Carcinoma de pulmón de células no pequeñas
28	NIOA1017	Carcinoma hepatocelular
29	NIOA1018	Hepatoma multifocal
30	NIOA1019	Carcinoma mucoepidermoide metastásico de la glándula salival (glándula parótida)
31	NIOP1001-B	Carcinoma nasofaríngeo
32	NIOP1003	Cuello uterino Ca
33	NIOP1004 (OBDM-079)	Carcinoma de pulmón - metastásico (óseo)
34	NIOP1005	NPC metastásico
35	NIOP1006	NPC - metastásico
36	NIOP1007 (OBDM-096)	Carcinoma pulmonar metastásico
37	NIOP1008	Cavidad oral - (1) Lengua lateral derecha; (2) Surco gingival derecho
38	NIOP1009	Carcinoma de colon transverso

ES 3 029 416 T3

		Inicio
	ID de muestras de paciente	Diagnóstico clínico
39	NIOP1010	Melanoma maligno +metastásico
40	NIOP1011	Melanoma maligno metastásico
41	NIOP1012	NPC
42	NIOP1013	NPC metastásico
43	NIOP1014	NPC
44	NIOP1015	Tumor cerebral temporal derecho
45	NIOP1016 *	Riñón Ca - metastásico
46	NIOP1017	Adenocarcinoma pobremente diferenciado de pulmón
47	NIOP1018 *	Adenocarcinoma - cabeza del páncreas
48	NIOP1019	Adenocarcinoma de colon descendente en estadio 4
49	NIOP1020	NPC metastásico
50	NIOP1021	Carcinoma vulvar recurrente
51	NIOP1022	Riñón Ca (CCR)
52	NIOP1023	NPC metastásico
53	NIOP1024	Carcinoma de pulmón metastásico (NSCLC)
54	NIOP1025	Carcinoma de células escamosas del pulmón izquierdo - estadio 4 metastásico
55	NIOP1026	Recidiva metastásica del seno sagital con recurrencia del ganglio parótido derecho
56	NIOP1002	Carcinoma nasofaríngeo metastásico
57	OBDM-001 (IOMP1003)	Pulmón
58	OBDM-002 (IOMP1008)	Pulmón
59	OBDM-008 (IOMD1003)	Pulmón
60	OBDM-014 (IOMP1004)	Pulmón
61	OBDM-019 (IOMA1003)	Pulmón
62	OBDM-033 (IOMA1001)	Pulmón
63	OBDM-034 (IOMA1005)	Pulmón
64	OBDM-035 (IOMA1006)	Pulmón
65	OBDM-042 (IOMP1001)	Pulmón
66	OBDM-044 (IOMD1001)	Pulmón
67	OBDM-046 (IOMD1004)	Pulmón
68	OBDM-015 (IOMD1002)	Pulmón
69	OBDM-074 (NIOA1002)	Carcinoma anaplásico de células pequeñas metastásico de pulmón
70	NIOP1027	Carcinoma de células escamosas metastásico y poco diferenciado de pulmón
71	NIOP1028	Carcinoma metastásico de pulmón
72	NIOP1029	Carcinoma de colangitis perihiliar (tumor de Klatskin)
73	NIOP1030	Carcinoma hepatocelular
74	NIOP1031	Carcinoma metastásico de estómago
75	NIOP1032	Carcinoma del conducto biliar (intrahepático)
76	NIOP1033	Carcinoma de células escamosas del maxilar izquierdo

		Inicio
	ID de muestras de paciente	Diagnóstico clínico
77	NIOP1034	Carcinoma de pulmón
78	NIOP1035	NPC
79	NIOP1036	Carcinoma pulmonar metastásico
80	NIOP1037	NPC
81	NIOP1038	NPC
82	NIOP1039	Carcinoma pancreático - metastásico
83	NIOA1020	Carcinoma pulmonar metastásico
84	NIOA1021	Carcinoma hepatocelular - hígado
85	NIOA1022	Carcinoma de células pequeñas de pulmón
85		

Tabla 9.2

	Terapia	Respuesta a la terapia	SEX	Seguimiento 1	
1	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	IOMA2002	PD (enfermedad progresiva)
2	Atezolizumab	N/A	F	IOMA2004	N/A
3	Atezolizumab	N/A	M		
4	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
5	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	IOMA2009*	PD (enfermedad progresiva)
6	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
7	Pembrolizumab	SD (enfermedad estable)	M	IOMP2005	SD (enfermedad estable)
8	Pembrolizumab	N/A	M	IOMP2006	N/A
9	Pembrolizumab	N/A	M	IOMP2007	N/A
10		N/A	M		
11	Pembrolizumab	N/A	M		
12	Pembrolizumab	N/A	F	IOMP2011	N/A
13	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOA2001*	PD (enfermedad progresiva)
14	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOA2003*	PD (enfermedad progresiva)
15	Atezolizumab	SD (enfermedad progresiva)	M	NIOA2004*	N/A
16	Atezolizumab	N/A	M	NIOA2005	N/A
17	Atezolizumab	N/A	M	NIOA2006	N/A
18	Atezolizumab	N/A	M		
19	Atezolizumab	N/A	M		
20	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
21	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
22	Atezolizumab	SD	M	NIOA2011	SD (enfermedad estable)
23	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOA2012	PD (enfermedad progresiva)
24	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
25	Atezolizumab	PR (respuesta parcial)	M	NIOA2014*	PR (respuesta parcial)
26	Atezolizumab	N/A	M	NIOA2015	N/A

ES 3 029 416 T3

	Terapia	Respuesta a la terapia	SEX	Seguimiento 1	
27	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F	NIOA2016	PD (enfermedad progresiva)
28	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOA2017	PD (enfermedad progresiva)
29	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOA2018	PD (enfermedad progresiva)
30	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
31	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2001*	PD (enfermedad progresiva)
32	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
33	Pembrolizumab	SD	M	NIOP2004	SD (enfermedad estable)
34	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
35	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
36	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2007	PD (enfermedad progresiva)
37	Pembrolizumab	N/A	F		
38	Pembrolizumab	N/A	M	NIOP2009	N/A
39	Pembrolizumab	N/A	M		
40	Pembrolizumab	N/A	F		
41	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2012	PD (enfermedad progresiva)
42	Pembrolizumab	SD (enfermedad estable)	F	NIOP2013	SD (enfermedad estable)
43	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2014	PD (enfermedad progresiva)
44	Pembrolizumab	N/A	M		
45	Pembrolizumab	PR (respuesta parcial)	M	NIOP2016	PR (respuesta parcial)
46	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F	NIOP2017	PD (enfermedad progresiva)
47	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2018*	PD (enfermedad progresiva)
48	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2019	PD (enfermedad progresiva)
49	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F	NIOP2020	PD (enfermedad progresiva)
50	Pembrolizumab	PR (respuesta parcial)	F	NIOP2021	PR (respuesta parcial)
51	Pembrolizumab	SD (enfermedad estable)	M	NIOP2022*	SD (enfermedad estable)
52	Pembrolizumab	SD (enfermedad estable)	F	NIOP2023	SD (enfermedad estable)
53	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
54	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
55	Pembrolizumab	CR (respuesta completa)	M	NIOP2026	CR (respuesta completa)
56	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	NIOP2002	PD (enfermedad progresiva)
57	Pembrolizumab	SD (enfermedad estable)	M	IOMP2003	SD (enfermedad estable)
58	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
59	Durvalumab		F	IOMD2003	PR (respuesta parcial)
60	Pembrolizumab	PR (respuesta parcial)	M	IOMP2004	PR (respuesta parcial)
61	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
62	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M	IOMA2001*	PD (enfermedad progresiva)
63	Atezolizumab	SD	M	IOMA2005	SD (enfermedad estable)
64	Atezolizumab	N/A	M	IOMA2006	N/A
65	Pembrolizumab	N/A	F		
66	Durvalumab	SD	M	IOMD2001	SD (enfermedad estable)

ES 3 029 416 T3

	Terapia	Respuesta a la terapia	SEX	Seguimiento 1	
67	Durvalumab	N/A	M	IOMD2004	N/A
68	Durvalumab	PR (respuesta parcial)	M	IOMD2002	PR (respuesta parcial)
69	Atezolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
70	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F	NIOP2027	PD (enfermedad progresiva)
71	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
72	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F		
73	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	F	NIOP2030	PD (enfermedad progresiva)
74	Pembrolizumab	N/A	F		
75	Pembrolizumab	PD (enfermedad progresiva)	M		
76	Pembrolizumab	N/A	M		
77	Pembrolizumab	PR (respuesta parcial)	M		
78	Pembrolizumab	N/A	M		
79	Pembrolizumab	N/A	F		
80	Pembrolizumab	N/A	F		
81	Pembrolizumab	N/A	M		
82	Pembrolizumab	N/A	M		
83	Atezolizumab	N/A	M	NIOA2020	N/A
84	Atezolizumab	N/A	M		
85	Atezolizumab	N/A	M		
				48	

Tabla 9.3

	Seguimiento 2		Seguimiento 3	
1	IOMA3002	PD (enfermedad progresiva)	IOMA4002	PD (enfermedad progresiva)
2	IOMA3004	N/A		
3				
4				
5				
6				
7	IOMP3005	SD (enfermedad estable)	IOMP4005	SD (enfermedad estable)
8	IOMP3006	N/A	IOMP4006	N/A
9	IOMP3007	N/A		
10				
11				
12				
13	NIOA3001	PD (enfermedad progresiva)		
14	NIOA3003*	PD (enfermedad progresiva)		
15	NIOA3004	SD (enfermedad estable)		
16				
17				

ES 3 029 416 T3

	Seguimiento 2		Seguimiento 3	
18				
19				
20				
21				
22	NIOA3011*	SD (enfermedad estable)	NIOA4011	SD (enfermedad estable)
23				
24				
25	NIOA3014*	PR (respuesta parcial)	NIOA4014	PR (respuesta parcial)
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33	NIOP3004	N/A	NIOP4004	SD (enfermedad estable)
34				
35				
36				
37				
38	NIOP3009	N/A	NIOP4009	N/A
39				
40				
41				
42				
43				
44				
45	NIOP3016	PR (respuesta parcial)	NIOP4016	PR (respuesta parcial)
46				
47				
48	NIOP3019	PD (enfermedad progresiva)		
49	NIOP3020	PD (enfermedad progresiva)	NIOP4020	PD (enfermedad progresiva)
50	NIOP3021	PR (respuesta parcial)	NIOP4021	PR (respuesta parcial)
51	NIOP3022	SD (enfermedad estable)		
52	NIOP3023	SD (enfermedad estable)		
53				
54				
55	NIOP3026	CR (respuesta completa)		
56				
57	IOMP3003	SD (enfermedad estable)	IOMP4003	SD (enfermedad estable)

ES 3 029 416 T3

	Seguimiento 2		Seguimiento 3	
58				
59	IOMD3003	PR (respuesta parcial)	IOMD4003*	PR (respuesta parcial)
60	IOMP3004	PR (respuesta parcial)		
61				
62	IOMA3001	PD (enfermedad progresiva)		
63				
64				
65				
66	IOMD3001	SD (enfermedad estable)	IOMD4001*	SD (enfermedad estable)
67				
68	IOMD3002*	PR (respuesta parcial)	IOMD4002	PR (respuesta parcial)
69				
70				
71				
72				
73				
74				
75				
76				
77				
78				
79				
80				
81				
82				
83				
84				
85				
	25		14	

Tabla 9.4

	Seguimiento 4		Seguimiento 5	
1	IOMA5002	PD (enfermedad progresiva)		
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				

ES 3 029 416 T3

	Seguimiento 4	Seguimiento 5
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		
21		
22		
23		
24		
25	NIOA5014 PR (respuesta parcial)	
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		
40		
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		

ES 3 029 416 T3

	Seguimiento 4		Seguimiento 5	
49				
50	NIOP5021	PR (respuesta parcial)		
51				
52				
53				
54				
55				
56				
57	IOMP5003	SD (enfermedad estable)		
58				
59				
60				
61				
62				
63				
64				
65				
66	IOMD5001	SD (enfermedad estable)	IOMD6001	SD (enfermedad estable)
67				
68	IOMD5002*	PR (respuesta parcial)	IOMD6002	PR (respuesta parcial)
69				
70				
71				
72				
73				
74				
75				
76				
77				
78				
79				
80				
81				
82				
83				
84				
85				
	6		2	

Tabla 9.5

ES 3 029 416 T3

Seguimiento 6	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	
31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	

ES 3 029 416 T3

Seguimiento 6		
41		
42		
43		
44		
45		
46		
47		
48		
49		
50		
51		
52		
53		
54		
55		
56		
57		
58		
59		
60		
61		
62		
63		
64		
65		
66	IOMD7001*	SD (enfermedad estable)
67		
68	IOMD7002	PR (respuesta parcial)
69		
70		
71		
72		
73		
74		
75		
76		
77		
78		
79		
80		

ES 3 029 416 T3

Seguimiento 6		
81		
82		
83		
84		
85		
	2	182
		158

REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar cómo responde un individuo a la inmunoterapia para el cáncer que comprende detectar la presencia o ausencia en el individuo de:
- 5
- todas las interacciones cromosómicas representadas por las secuencias de sonda que se muestran en la Tabla 8c para determinar así si el individuo responderá a la inmunoterapia; y/o
 - todas las interacciones cromosómicas representadas por las secuencias de sonda que se muestran en la Tabla 2.a3 para determinar así si el individuo es un hiperprogresor en quien la inmunoterapia acelerará la enfermedad.
- 10
2. Un método según la reivindicación 1, que comprende además detectar la presencia o ausencia en el individuo de todas las interacciones cromosómicas representadas por las secuencias de sonda mostradas en la Tabla 1.a3 para determinar así si el individuo responderá a la inmunoterapia.
- 15
3. Un método según la reivindicación 1 o 2, en donde se determina la presencia o ausencia de las interacciones cromosómicas:
- en una muestra del individuo, y/o
 - en el ADN del individuo, y/o
 - detectando la presencia o ausencia de un bucle de ADN en el sitio de las interacciones cromosómicas, y/o
 - detectar la presencia o ausencia de regiones distales de un cromosoma que se unen en una conformación cromosómica, y/o
 - detectando la presencia de un ácido nucleico ligado que se genera durante dicha tipificación y cuya secuencia comprende dos regiones cada una de las cuales corresponde a las regiones del cromosoma que se unen en la interacción cromosómica, y/o
 - mediante un proceso que detecta la proximidad de las regiones cromosómicas que se han unido en la interacción cromosómica.
- 20
- 25
- 30
- 35
4. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha detección de la presencia o ausencia de interacciones cromosómicas se realiza mediante un proceso que comprende:
- (i) reticular in vitro las interacciones cromosómicas epigenéticas que están presentes;
 - (ii) aislar opcionalmente el ADN reticulado;
 - (iii) someter dicho ADN reticulado a escisión;
 - (iv) ligar dichos extremos de ADN escindidos reticulados para formar ADN ligado; y
 - (v) identificar la presencia o ausencia en dicho ADN ligado de una secuencia de ADN que corresponda a cada interacción cromosómica;
- 40
- 45
- 50
- para así determinar la presencia o ausencia de cada interacción cromosómica.
5. Un método según la reivindicación 3 o 4, en donde dicho ADN ligado se detecta mediante PCR o mediante el uso de una sonda.
- 55
6. Un método según la reivindicación 5, en donde:
- (i) la detección se realiza mediante el uso de una sonda, en donde dicha sonda preferiblemente tiene al menos un 70 % de identidad con cualquiera de las sondas que se muestran en la Tabla 1.a3, 2.a3 o 8c; o
 - (ii) la detección se realiza mediante el uso de PCR, en donde la PCR utiliza preferiblemente un par de cebadores que tiene al menos un 70 % de identidad con cualquiera de los pares de cebadores que se muestran en:
- Tabla 1a6 y 1a7,
 - Tabla 2.a6, o
 - Tabla 8b y 8c.
- 60
- 65

7. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde:

5 (i) el método se lleva a cabo antes de que el individuo reciba inmunoterapia y/o se lleva a cabo para seleccionar qué terapia debe recibir el individuo para el cáncer, y/o

(ii) el método se lleva a cabo en un individuo que tiene cáncer o se sospecha que tiene cáncer, y/o

10 (iii) el método se lleva a cabo en un individuo que ha sido preseleccionado en función de una característica física, un factor de riesgo o la presencia de un síntoma de cáncer.

8. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que el individuo:

15 - se encuentra en una etapa temprana del cáncer; y/o

- está recibiendo o está a punto de recibir una terapia contra el cáncer, por ejemplo inmunoterapia contra el cáncer.

9. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el cáncer es:

20 (i) uno en el que se utilizan inhibidores de puntos de control inmunitario PD-1/PD-L1 para la terapia; y/o

(ii) melanoma, cáncer de pulmón, carcinoma hepatocelular (cáncer de hígado), cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer nasal, cáncer de glándula parótida (cáncer de glándula salival), sarcoma alveolar de partes blandas (cáncer de tejidos blandos); y/o

25 (iii) cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, linfoma de Hodgkin, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer rectal o un tumor sólido.

30 10. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que la inmunoterapia:

(i) comprende un anticuerpo o una célula inmunitaria, preferiblemente una célula T o una célula dendrítica; y/o

(ii) comprende una vacuna, preferiblemente contra el cáncer; y/o

35 (iii) modula, bloquea o estimula un punto de control inmunitario, y preferiblemente se dirige o modula PD-L1, PD-L2 o CTLA4 o cualquier otra molécula de punto de control inmunitario descrita en la Tabla 3; y/o

(iv) comprende una terapia mostrada en cualquiera de las tablas 4 a 6; y/o

40 (v) aumenta la eliminación de células cancerosas por parte del sistema inmunológico, preferiblemente en donde dicha eliminación se realiza por una célula T.

11. Un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la inmunoterapia es:

45 (i) un inhibidor de PD-1 o un inhibidor de PD-L1, y es preferiblemente un anticuerpo específico para PD-1 o PD-L1; y/o

50 (ii) un inhibidor de PD-2 o un inhibidor de PD-L2, y es preferiblemente un anticuerpo específico para PD-2 o PD-L2.

55 12. Un método según la reivindicación 4, en donde la detección de la presencia o ausencia de interacciones cromosómicas comprende la detección específica del ADN ligado mediante PCR cuantitativa (qPCR), que utiliza cebadores capaces de amplificar el ADN ligado y una sonda que se une al sitio de ligación durante la reacción de PCR, donde dicha sonda comprende una secuencia complementaria a la secuencia de cada una de las regiones cromosómicas que se han unido en la interacción cromosómica

13. Un método según la reivindicación 13, en donde la sonda comprende:

60 - un fluoróforo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda, y/o

- un extintor unido covalentemente al extremo 3' de la sonda

14. Un método según la reivindicación 13, en donde:

65 - dicho fluoróforo se selecciona entre HEX, Texas Red y FAM; y/o

ES 3 029 416 T3

- dicha sonda comprende una secuencia de ácido nucleico de una longitud de 10 a 40 bases nucleotídicas, preferiblemente una longitud de 20 a 30 bases nucleotídicas.

5 15. Una inmunoterapia para el cáncer que es un anticuerpo específico para PD-1 o PD-L1 para su uso en un método de tratamiento de un cáncer en un individuo, en donde dicho método de tratamiento comprende:

- identificar si el individuo responde al anticuerpo específico para PD-1 o PD-L1 mediante el método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, y

10 - administrar a un individuo que ha sido identificado como sensible a un anticuerpo específico para PD-1 o PD-L1 dicho anticuerpo específico para PD-1 o PD-L1.

DIBUJOS

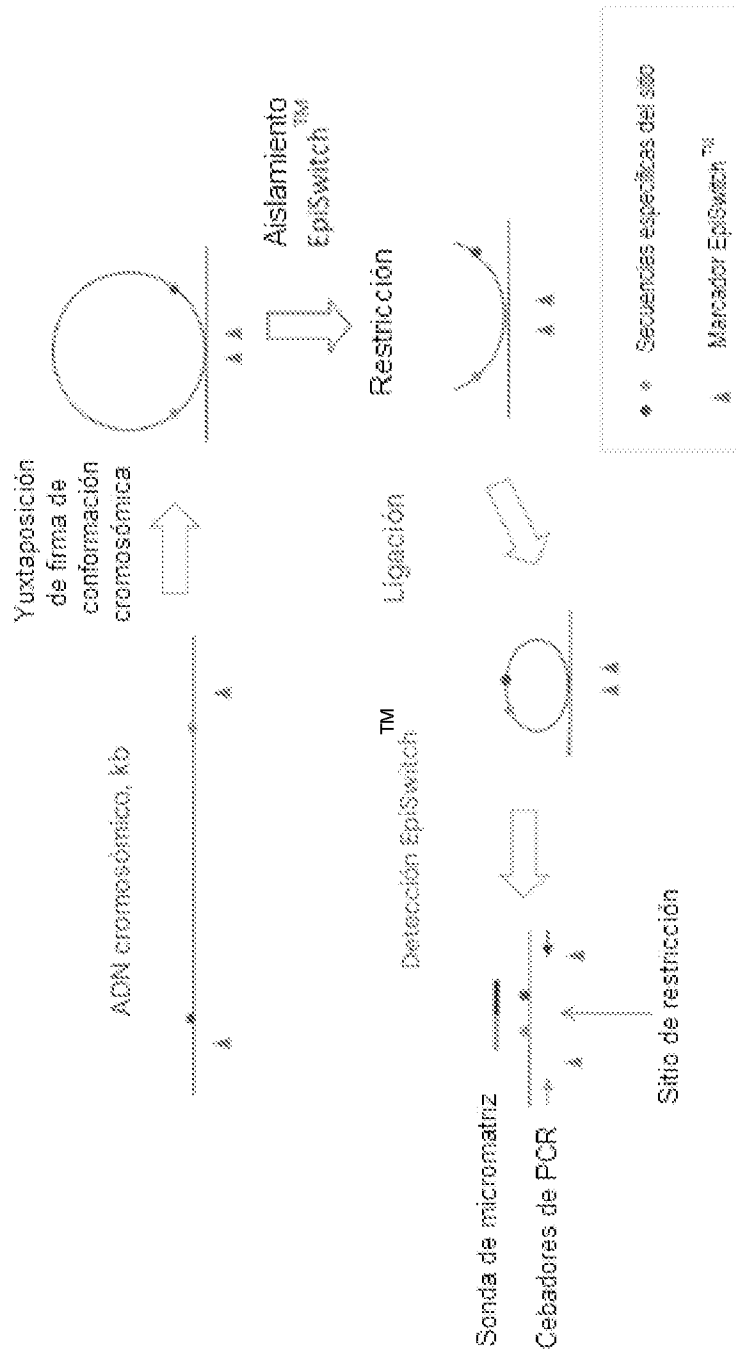


Figura 1

PFS: Resultado clínico RECIST 1.1

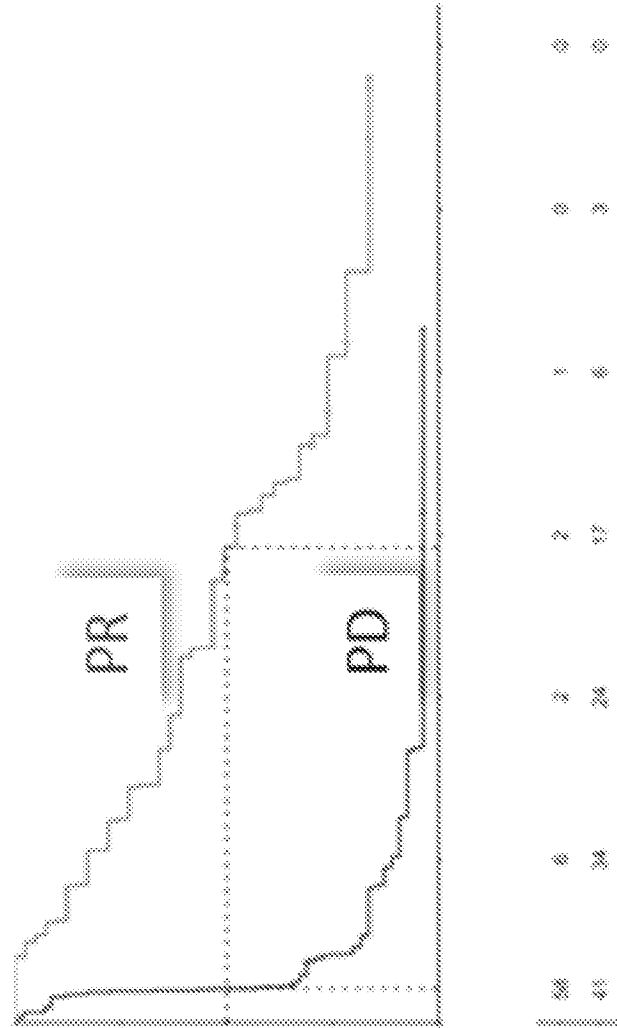


Figura 2a

PFS: % PD-L1 IHC en la línea base

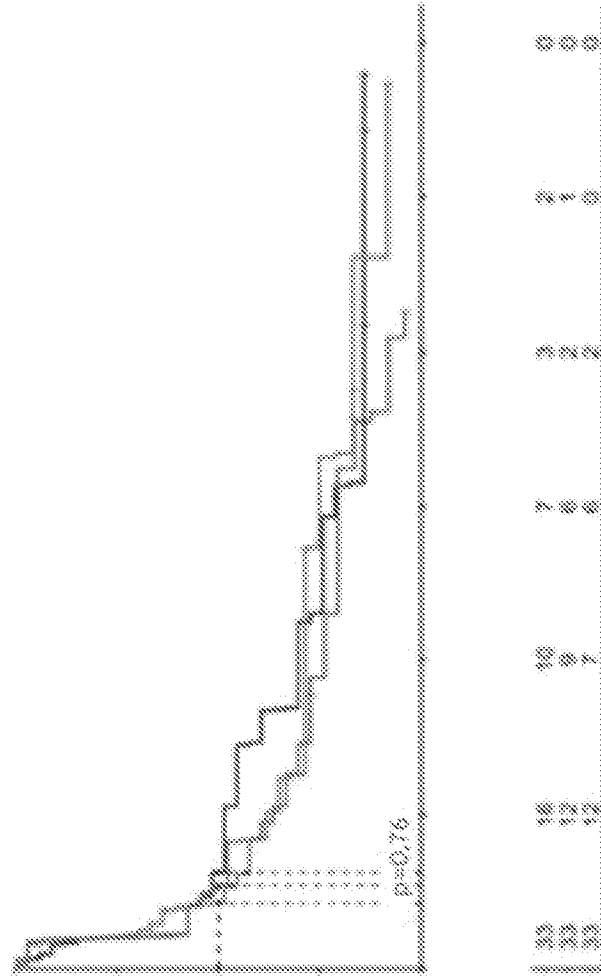


Figura 2b

PFS: EpiSwitch™ previsto en la línea base

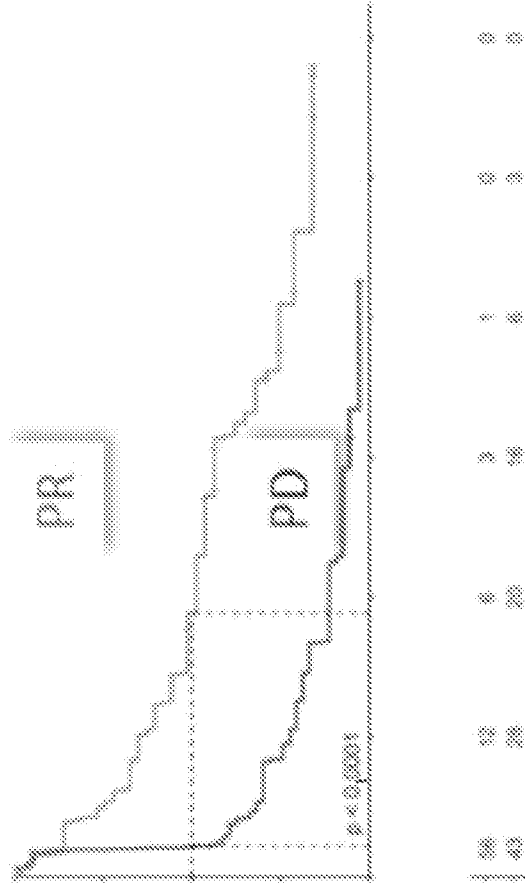


Figura 2c

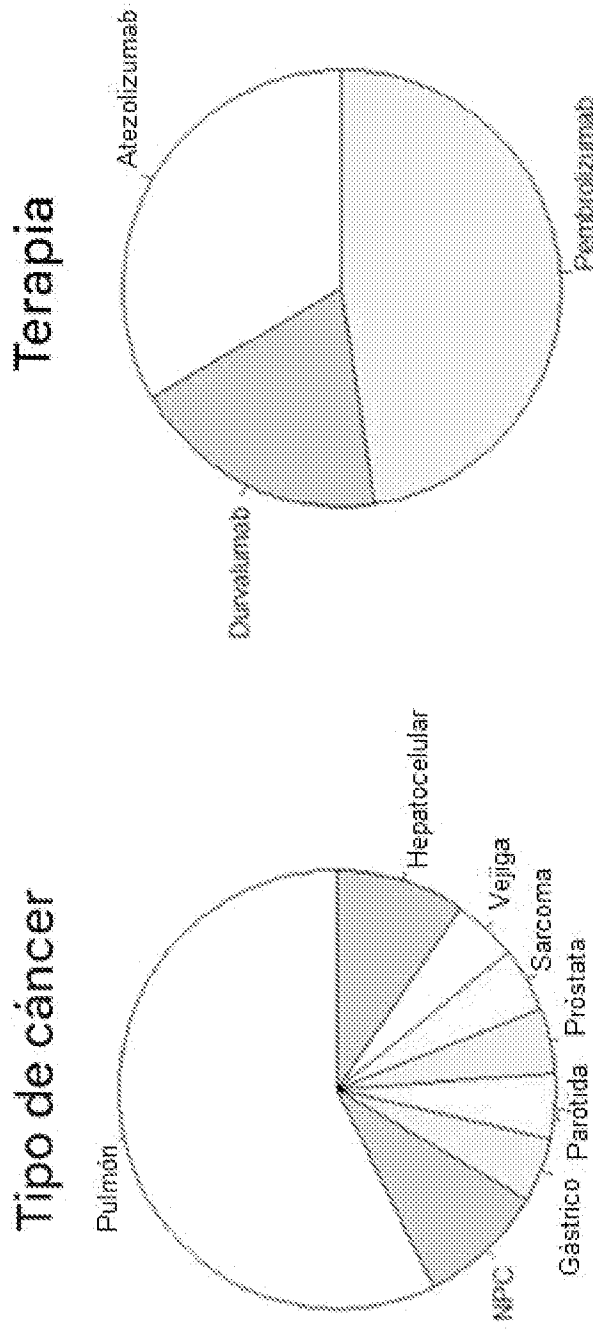


Figura 3

Paciente #	Expresión de PD-L1	Llamada de EpiSwitch	Respuesta clínica
1	+	NR	NR
2	+	NR	NR
3	+	NR	NR
4	+	R	R
5	+	NR	R
6	-	R	R
7	+	NR	NR
8	Cont.	NR	NA

	Cáncer de pulmón	Todos los cánceres
Sensibilidad	71%	80%
Especificidad	100%	100%
VPP	100%	100%
VPN	71%	75%

Figura 4

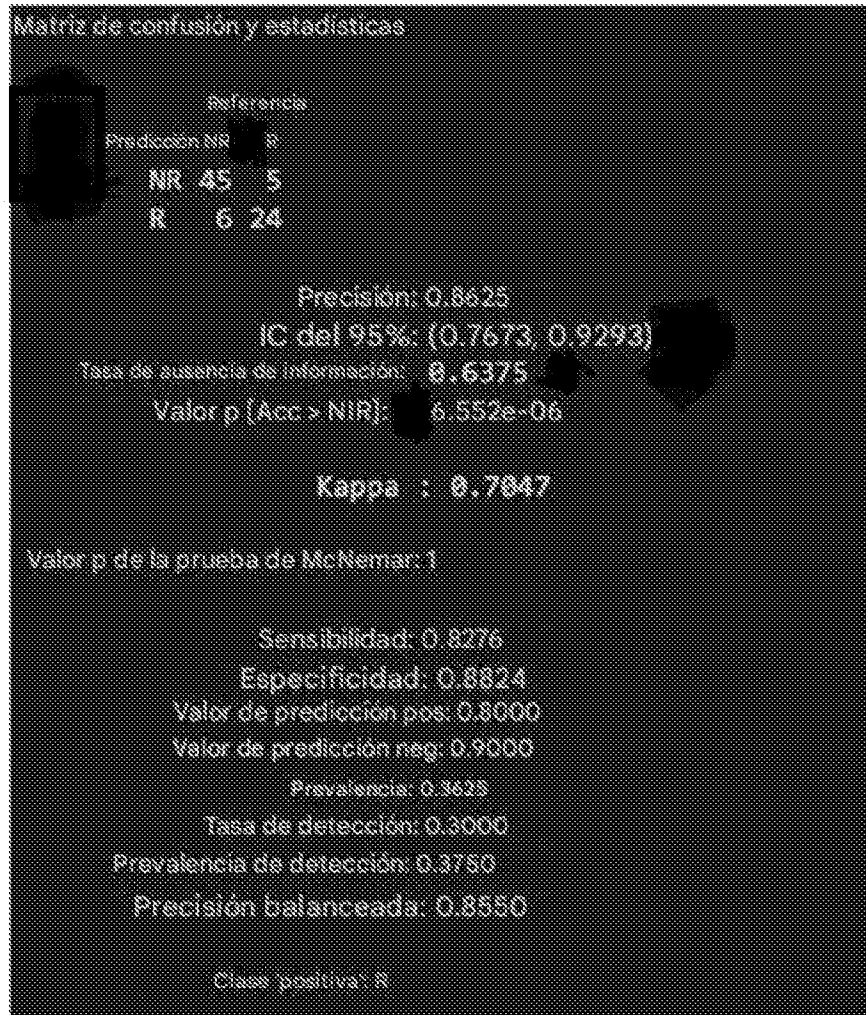


Figura 5

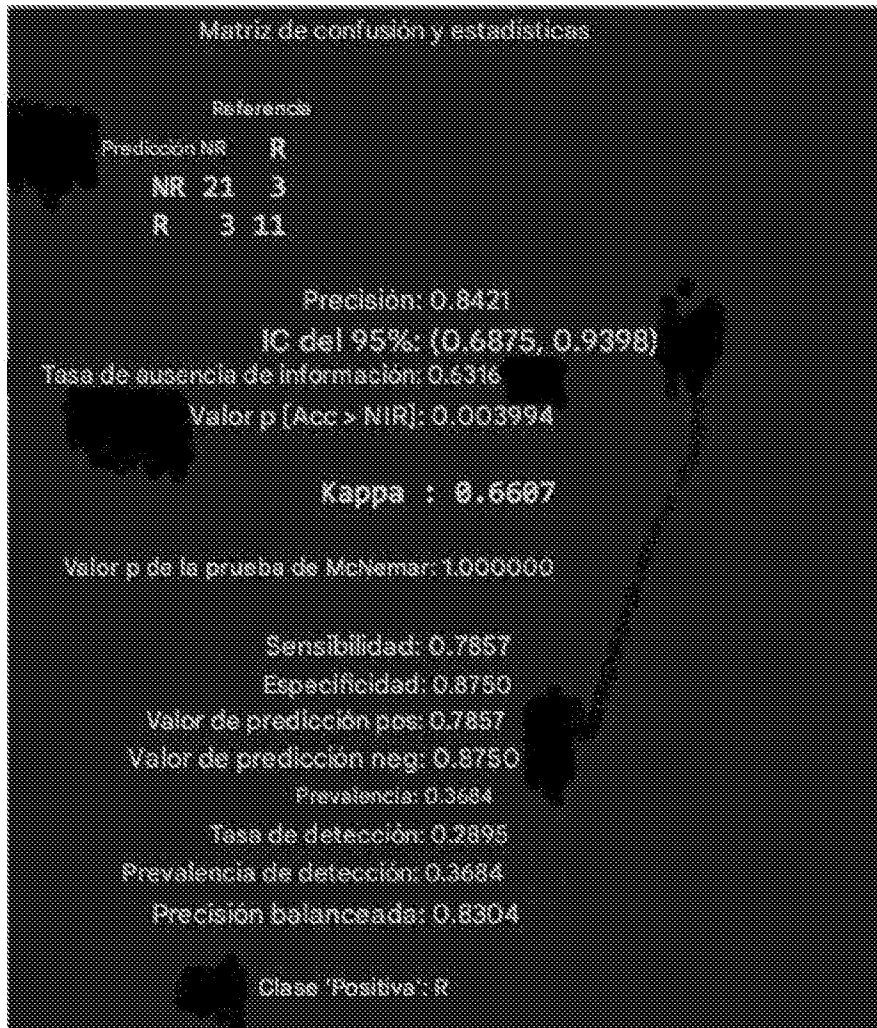


Figura 6

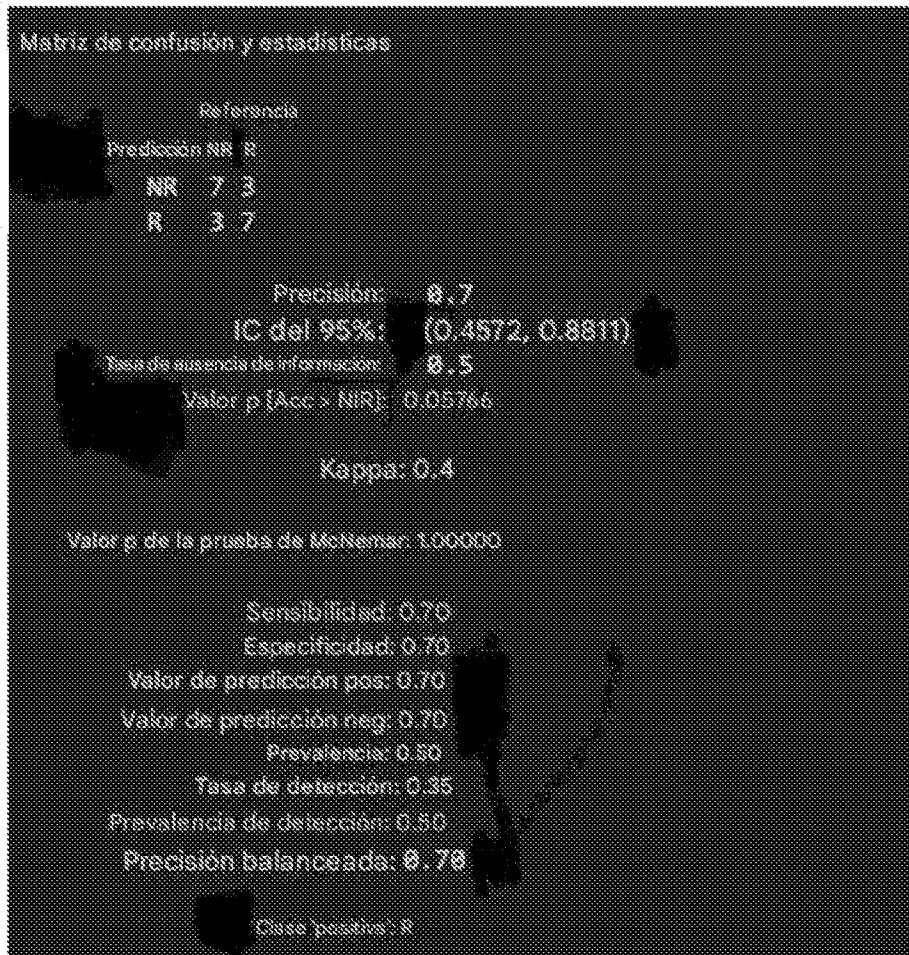


Figura 7

Muestra	Llamada	Resp	Tiempo	CPI	Enfermedad	Estado
ICMA1007	NR	NR	7.1	Atezolizumab	zarroca zinecor ca perlas zarroca	vivo
ICMP1007	R	R	18.1	Pembrolizumab	Vejiga	vivo
ICMA1002	R	R	2.1	Atezolizumab	HCC	muerto
ICMP1009	NR	NR	20.1	Pembrolizumab	HCC	muerto
O8DM-033	R	NR	1.1	Atezolizumab	Pulmón	vivo
O8DM-019	NR	NR	3.1	Atezolizumab	Pulmón	muerto
O8DM-034	R	R	5.1	Atezolizumab	Pulmón	
O8DM-035	NR	R	6.1	Atezolizumab	Pulmón	muerto
O8DM-044	R	R	8.1	Durvalumab	Pulmón	
O8DM-015	NR	R	9.1	Durvalumab	Pulmón	vivo
O8DM-008	R	R	10.1	Durvalumab	Pulmón	vivo
O8DM-042	R	NR	12.1	Pembrolizumab	Pulmón	
O8DM-001	NR	NR	14.1	Pembrolizumab	Pulmón	muerto
O8DM-014	R	R	15.1	Pembrolizumab	Pulmón	vivo
ICMP1006	NR	R	17.1	Pembrolizumab	Pulmón	vivo
O8DM-002	NR	NR	19.1	Pembrolizumab	Pulmón	
ICMP1010	R	NR	21.1	Pembrolizumab	Pulmón	
ICMP1005	NR	NR	16.1	Pembrolizumab	NPC	vivo
ICMP1002	NR	NR	13.1	Pembrolizumab	Cáncer gástrico NPC	muerto
ICMA1004	R	R	4.1	Atezolizumab	Glándula parotida	vivo

Figura 8

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
OBID_ID	Paciente	Evaluación clínica	EpisSwitch	Ca	Enfermedad	Fármaco	Nacionalidad	Toma de sangre	Línea de tiempo	Diagnóstico clínico	MR	R																																																																																																																																																																																											
10M01001	8 PR	R		Pulmón	Pulmón	Dexametab	China	08-Jun-18		El Carcinoma de pulmón estado 3A T3N2M0		0,44574																																																																																																																																																																																											
10M02001	8 PR	NR		Pulmón	Pulmón	Dexametab	China	03-Ago-18		2m Carcinoma de pulmón estado 3A T3N2M0		0,533819																																																																																																																																																																																											
10M03001	8 PR	R		Pulmón	Pulmón	Dexametab	China	28-Sep-18		4m Carcinoma de pulmón estado 3A T3N2M0		0,48932																																																																																																																																																																																											
10M04001	8 PR	R		Pulmón	Pulmón	Dexametab	China	23-Nov-18		6m Carcinoma de pulmón estado 3A T3N2M0		0,115224																																																																																																																																																																																											
10M05001	8 PR	R		Pulmón	Pulmón	Dexametab	China	13-Ene-19		8m Carcinoma de pulmón estado 3A T3N2M0		0,338278																																																																																																																																																																																											
10M06004	15 PR	R		Pulmón	Pulmón	Pembrolizumab	China	26-Ago-18		8L Carcinoma de pulmón (requerido)		0,306853																																																																																																																																																																																											
10M07004	15 PR	R		Pulmón	Pulmón	Pembrolizumab	China	09-Nov-18		2m Carcinoma de pulmón (requerido)		0,298884																																																																																																																																																																																											
10M08004	15 PR	NR		Pulmón	Pulmón	Pembrolizumab	China	01-Feb-19		5m Carcinoma de pulmón (requerido)		0,511593																																																																																																																																																																																											
10M09001	1 PD	NR		Pulmón	Pulmón	Atezolizumab	China	07-Ago-18		El Adenocarcinoma de pulmón poco diferenciado		0,979943																																																																																																																																																																																											
10M1001	1 SD	R		Pulmón	Pulmón	Atezolizumab	China	19-Sep-18		1m Adenocarcinoma de pulmón poco diferenciado		0,228789																																																																																																																																																																																											
10M11001	1 PD	R		CNP	CNP	Atezolizumab	China	10-Oct-18		2m Adenocarcinoma de pulmón poco diferenciado		0,306813																																																																																																																																																																																											
10M12006	17 PR	R		CNP	CNP	Pembrolizumab	China	24-Sep-18		8L Carcinoma nasofaríngeo – metastásico		0,35216																																																																																																																																																																																											
10M13006	17 PR	R		CNP	CNP	Pembrolizumab	China	12-Oct-18		3m Carcinoma nasofaríngeo – metastásico		0,048696																																																																																																																																																																																											

Figura 9

Problema	Medicamento	Tiempo	Ciudad	Llamadas Esp. Switch	0302-043-201	0302-043-207	0302-043-208	0302-043-209	0302-043-210	0302-043-211
ICM401001	Durvelsumab	BL	PA	1	1	1	1	1	1	1
ICM402001	Durvelsumab	2m	PA	1	1	1	1	1	1	1
ICM403001	Durvelsumab	4m	PA	0	0	1	1	1	1	1
ICM404001	Durvelsumab	6m	PA	0	0	1	1	1	1	1
ICM405001	Durvelsumab	8m	PA	1	1	1	1	1	1	1
ICM406004	Pembrolizumab	BL	PA	0	0	0	0	0	0	0
ICM407004	Pembrolizumab	2M	PA	0	0	0	0	0	0	0
ICM408004	Pembrolizumab	3M	PA	0	1	1	1	1	1	1
ICM409001	Atezolizumab	BL	PA	1	0	0	0	0	0	0
ICM41001	Atezolizumab	1M	PA	0	0	0	0	0	0	0
ICM411001	Atezolizumab	2M	PA	0	0	0	0	0	0	0
ICM412008	Pembrolizumab	BL	PA	0	1	1	1	1	1	1
ICM413008	Pembrolizumab	3M	PA	0	1	1	1	1	1	1
ICM414001	Atezolizumab	1M	PA	1	0	0	0	0	0	0
ICM415001	Atezolizumab	BL	PA	0	0	0	0	0	0	0
ICM416001	Atezolizumab	3M	PA	0	0	0	0	0	0	0

Figura 10

ID_Paciente_OS	SFS	IRPFS	OS_C	PFS_C	HP	ID_Sujeto	ID_Muestra	Respuesta_1	Clase_1	Respuesta_2	Clase_2	Tipo_Cohorte	Cohorte
2	509175_A1	1367	1160	1160	0	0	1020025:AF022355-4	PR	R	PR	R	2L	2
3	509259_A1	1146	1147	1147	0	0	1560011:AF385796-4	CR	R	CR	R	2L	2
4	521959_A1	855	836	836	0	0	1420014:AH466127-4	PR	R	SD	R	1L	2
5	521728_A1	771	751	751	0	0	1930050:AH220021-4	PR	R	PR	R	1L	2
6	517908_A1	715	715	715	0	0	4030014:EE515670-4	PR	R	PR	R	1L	2
7	505211_A1	1475	710	710	0	0	1220003:AE756710-4	CR	R	CR	R	2L	2
8	509237_A1	625	554	554	0	0	1420008:AE744168-4	PR	R	PR	R	2L	2
9	521683_A1	895	542	542	0	0	2040009:AH291334-3	PR	R	PR	R	1L	2
10	509218_A1	1491	723	723	0	0	1220001:AE736715-4	PR	R	PR	R	2L	2
11	509274_A1	1312	631	631	0	0	1670004:AF187296-1	PR	R	PR	R	2L	2
12	509289_A1	1128	627	627	0	0	1760002:AF615475-4	PR	R	PR	R	2L	2
13	509194_A1	1247	585	585	0	0	1110004:AF515133-4	PR	R	PR	R	2L	2
14	521705_A1	771	460	460	0	0	1220039:AH049795-4	PR	R	PR	R	1L	2
15	517297_A1	6	6	6	1	1	4030013:EE515668-4	NE	NR	ME	NR	1L	2
16	521722_A1	13	13	13	1	1	2100025:AH559454-4	NE	NR	ME	NR	1L	2
17	509166_A1	28	19	28	1	1	1020001:AE757084-4	PD	NR	PD	NR	2L	2
18	523613_A1	32	32	32	1	1	1950007:AH39175-4	ME	NR	ME	NR	1L	2
19	521692_A1	35	35	35	1	1	1670026:AH392216-6	NE	NR	ME	NR	1L	2
20	509295_A1	52	39	39	1	1	1930003:AF386933-4	PD	NR	PD	NR	2L	2
21	520421_A1	53	40	53	1	1	1880019:AG676187-4	PD	NR	PD	NR	1L	2
22	509272_A1	57	13	13	1	1	1220021:AF389757-4	PD	NR	PD	NR	2L	2
23	509380_A1	81	50	81	1	1	2080002:AF27854-4	PD	NR	PD	NR	2L	2
24	509233_A1	84	52	84	1	1	1410002:AF077253-4	PD	NR	PD	NR	2L	2
25	509180_A1	102	45	45	1	1	1680005:AF050825-4	PD	NR	PD	NR	2L	2
26	521953_A1	127	42	42	1	1	1350016:AH504910-4	PD	NR	PD	NR	1L	2
27	521898_A1	132	42	42	1	1	1070031:AH050697-4	PD	NR	PD	NR	1L	2

Figura 11

1	Nombre del marcador	Q5.pval	PFS.pval	Diferencia	Gen
2	OBD148_105.107_2	0.02101101	0.02260266	5	PAG1
3	OBD148_669.671_2	0.17777781	0.042222486	-3	PANK3
4	OBD117_029.031_2	0.28452726	0.08518713	-3	CD274_PDCD1LG2
5	OBD148_645.647_4	0.05317131	0.1075997	-5	IFT88_IL17D
6	OBD148_821.823_1	0.05384985	0.12730792	4	CASP6_PLA2G12A_CFI
7	OBD148_893.895_2	0.0667315	0.14221077	5	CCL8_CCL13_CCL1
8	OBD148_917.919_4	0.03030755	0.14565984	6	TNFSF8_TNC
9	OBD148_301.303_2	0.04261089	0.14989053	5	TRAF1_PHF19
10	OBD148_505.507_2	0.07939328	0.2284663	5	TNFRSF11A
11	OBD148_661.663_1	0.05941606	0.31868899	5	DPYSL2
12	OBD148_261.263_1	0.06613001	0.44550018	5	IKBKB

Figura 13

RESULTADOS DETALLADOS

Vías: 36, Genes coincidentes: 14

Introduzca el texto del filtro

Calificación	Nombre	# Genes Coincidentes (Genes totales)	Fuentes
27,05	Super vía: Vía PAK	8 (683)	
26,10	Super vía: Señalización inducida por PEDF	8 (743)	
22,49	Super vía: Vía TRAF	5 (186)	
22,18	Super vía: Señalización Akt	7 (682)	
20,32	Super vía: Vía de señalización de NF-kappa B	4 (102)	
18,71	Super vía: Vía CCR5 en macrófagos	5 (321)	
18,58	Super vía: Señalización de NF-kappa B	5 (327)	
17,65	Super vía: Translocación de ZAP-70 a sinapsis inmunológica	3 (46)	
17,29	Super vía: Apoptosis y supervivencia antiapoptotica vía TNF/NF-kB/Bcl-2	3 (50)	
17,00	Super vía: Apoptosis y autofagia	4 (183)	
16,66	Super vía: Vía de coseñalización de linfocitos T: interacciones ligando-receptor	3 (58)	
16,30	Super vía: Vía TNFR1	4 (207)	
14,12	Super vía: Señalización RANK en osteoclastos	3 (105)	
14,04	Super vía: Vía de la superfamilia de quimoquina: interacciones ligando-receptor humano/ratón	3 (107)	
13,18	Super vía: Señalización ERK	6 (1179)	
12,81	Super vía: Señalización de LMP1 de EBV	2 (24)	
10,47	Super vía: Modulación y señalización de la apoptosis	3 (249)	
10,14	Super vía: Señalización mediada por P75 (NTR)	2 (61)	
9,95	Super vía: Vía de TGF-Beta	4 (653)	
9,92	Super vía: Señalización de TCR en células T CD4+ ingenuas	2 (66)	

Figura 14

RESULTADOS DETALLADOS

Vías: 36, Genes coincidentes: 14

Introduzca el texto del filtro

Calificación	Nombre	# Genes Coincidentes (Genes totales)	Fuentes
9,71	Super vía: Activación de la microglía durante la neuroinflamación: Polarización de la microglía	2 (71)	
9,67	Super vía: Señalización TNF (REACTOME)	2 (72)	
9,17	Super vía: Co-estimulación CD28	2 (86)	
8,98	Super vía: Cáncer de pulmón de células pequeñas	2 (92)	
8,72	Super vía: Procesamiento y presentación de antígenos mediada por MHC de clase I	4 (823)	
8,62	Super vía: Sistema inmunitario innato	6 (2124)	
8,59	Super vía: Señalización P70S6K	3 (392)	
8,42	Super vía: Vía de señalización de TNF	2 (112)	
8,37	Super vía: Fosforilación y eliminación de Cdc6 mediada por CDK	4 (879)	
8,32	Super vía: Vías de señalización de la familia IL-17	2 (116)	
8,18	Super vía: Señalización TCR (REACTOME)	2 (122)	
8,07	Super vía: Vía de señalización del receptor de lecitina de tipo C	2 (127)	
8,04	Super vía: Diferenciación de osteoclastos	2 (128)	
7,71	Super vía: Señalización del factor del factor neurotrófico derivador del cerebro (BDNF)	2 (144)	
7,68	Super vía: Señalización de CCR3 en la respuesta inmunitaria de los eosinófilos	2 (146)	
7,68	Super vía: Moléculas de adhesión celular (CAM5)	2 (147)	

Navigation icons

Elementos por página: 20

Figura 15

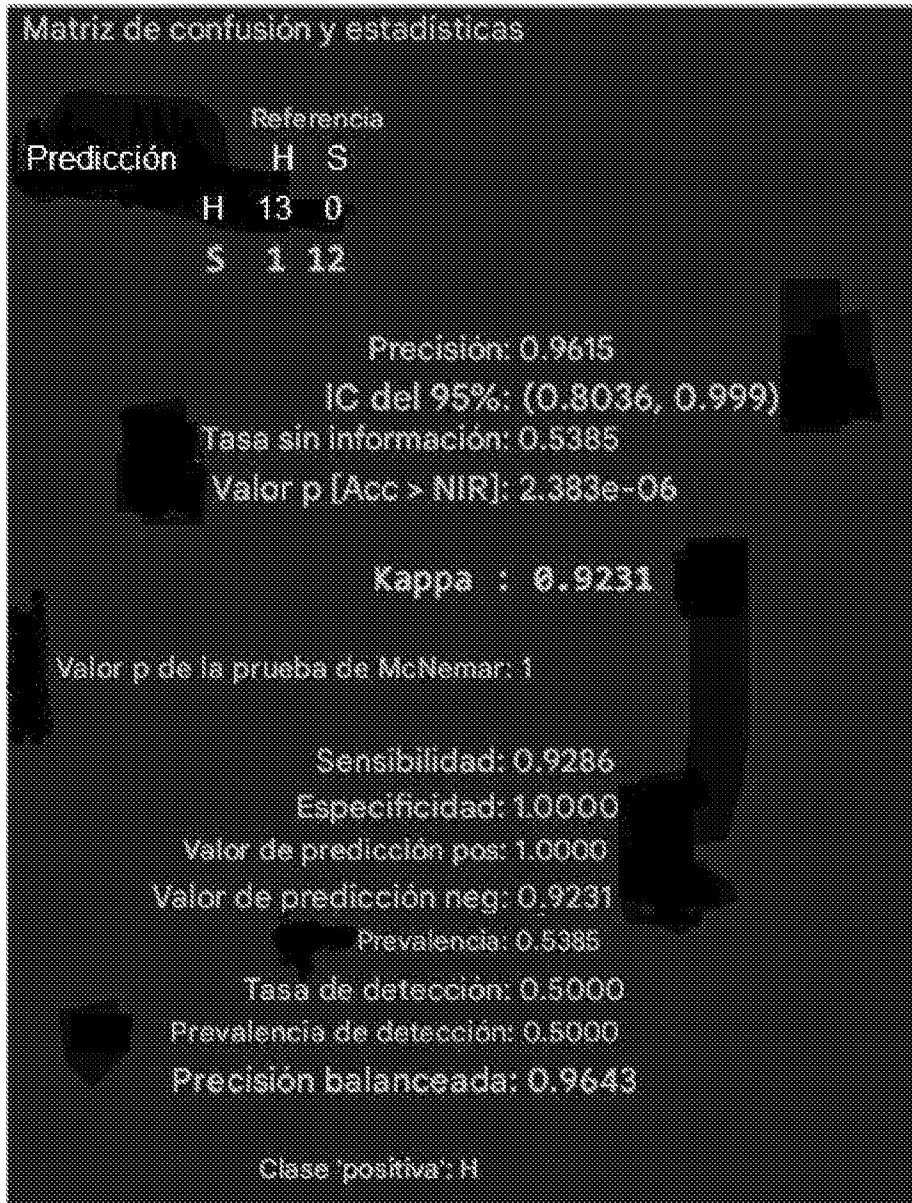


Figura 16

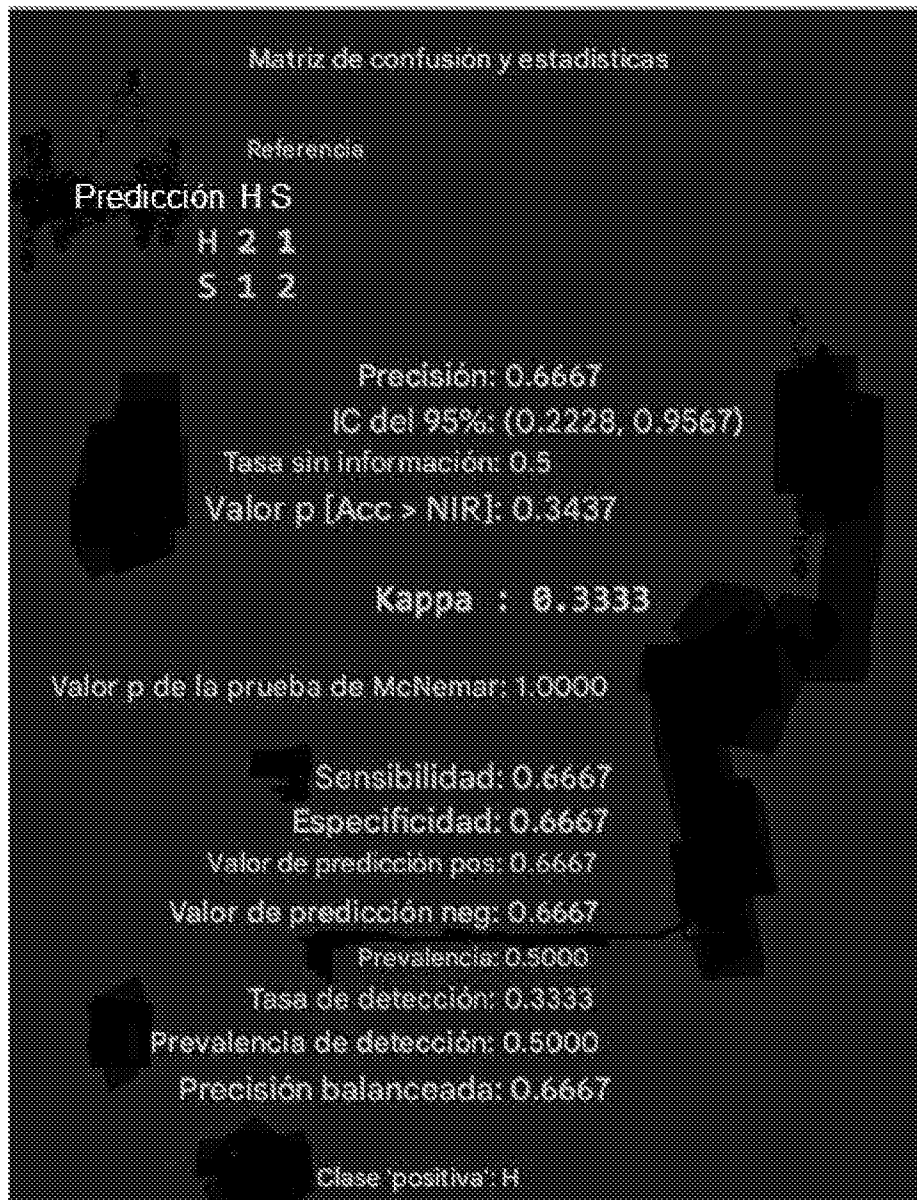


Figura 17

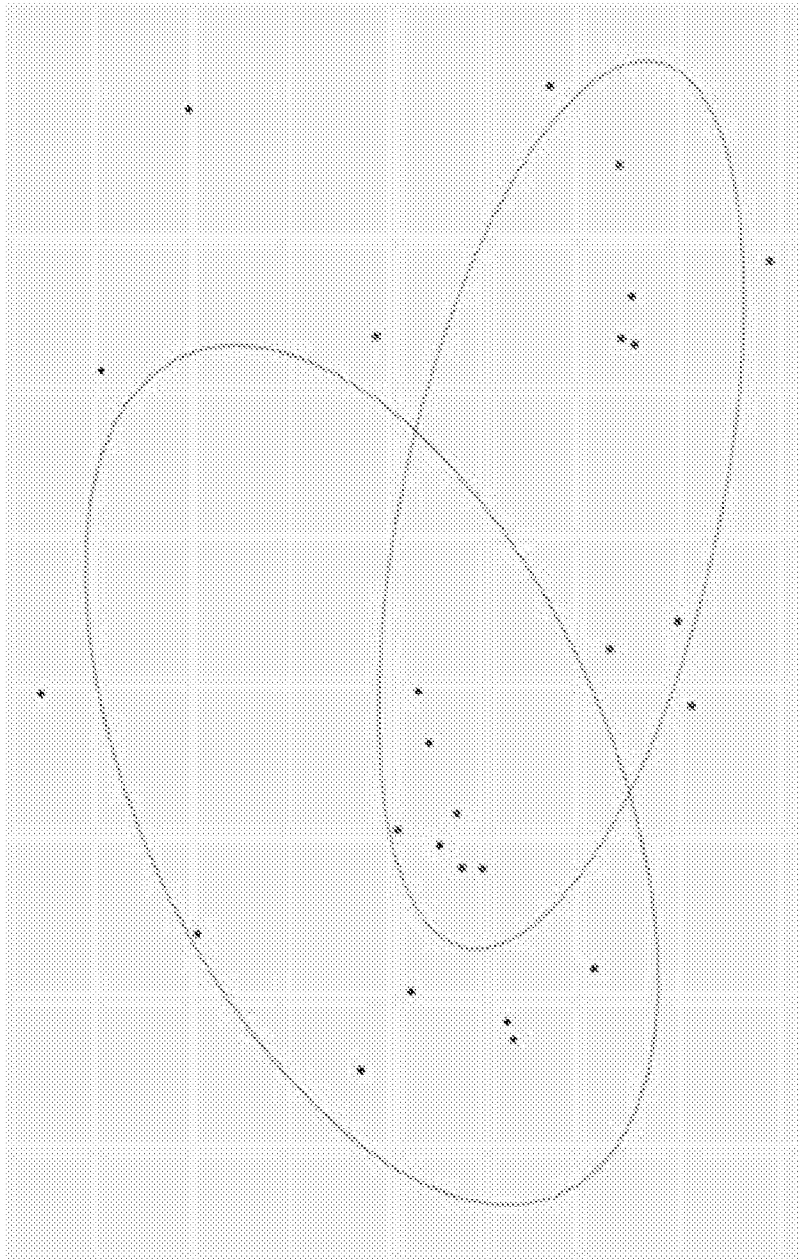


Figura 18

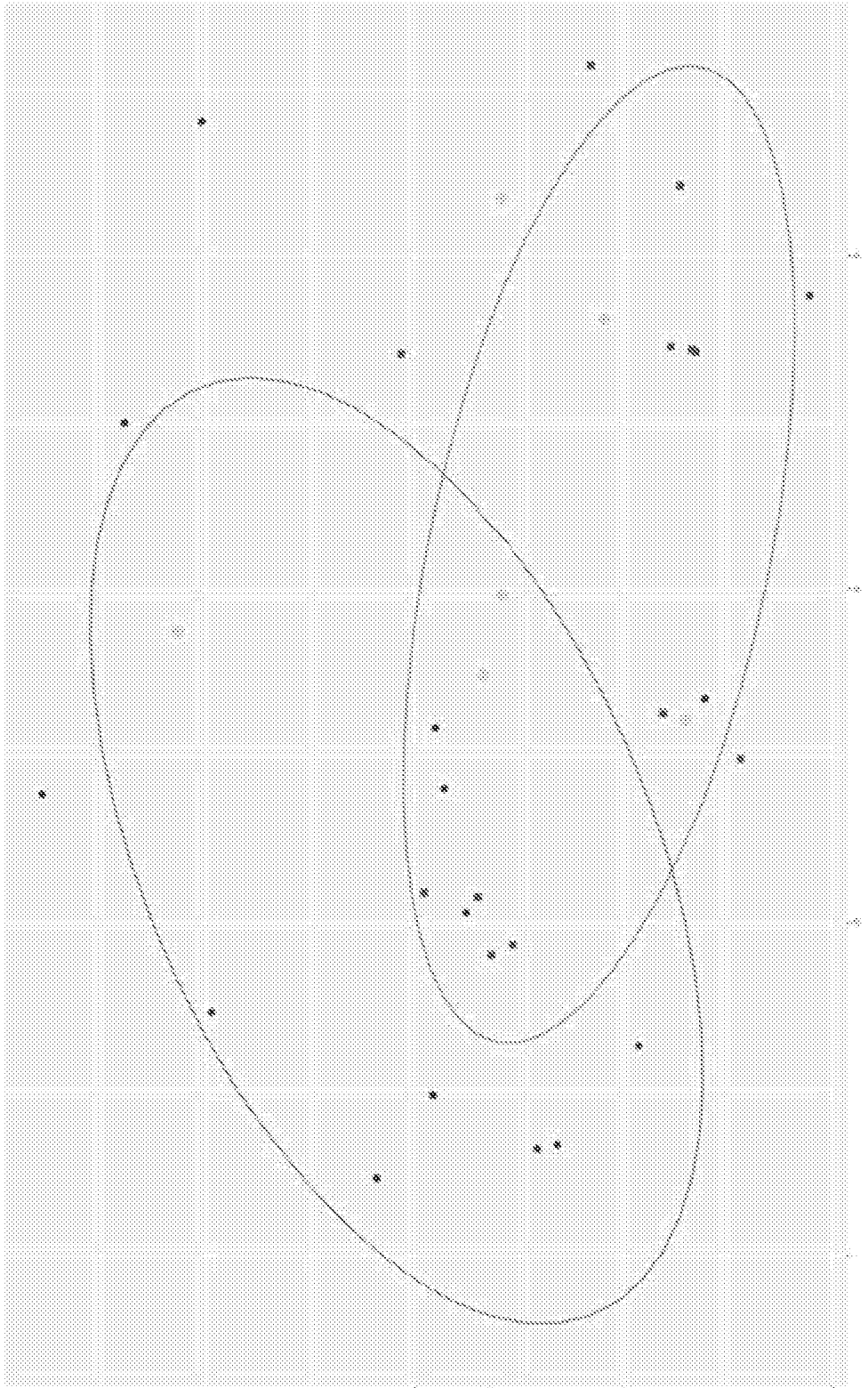


Figura 19

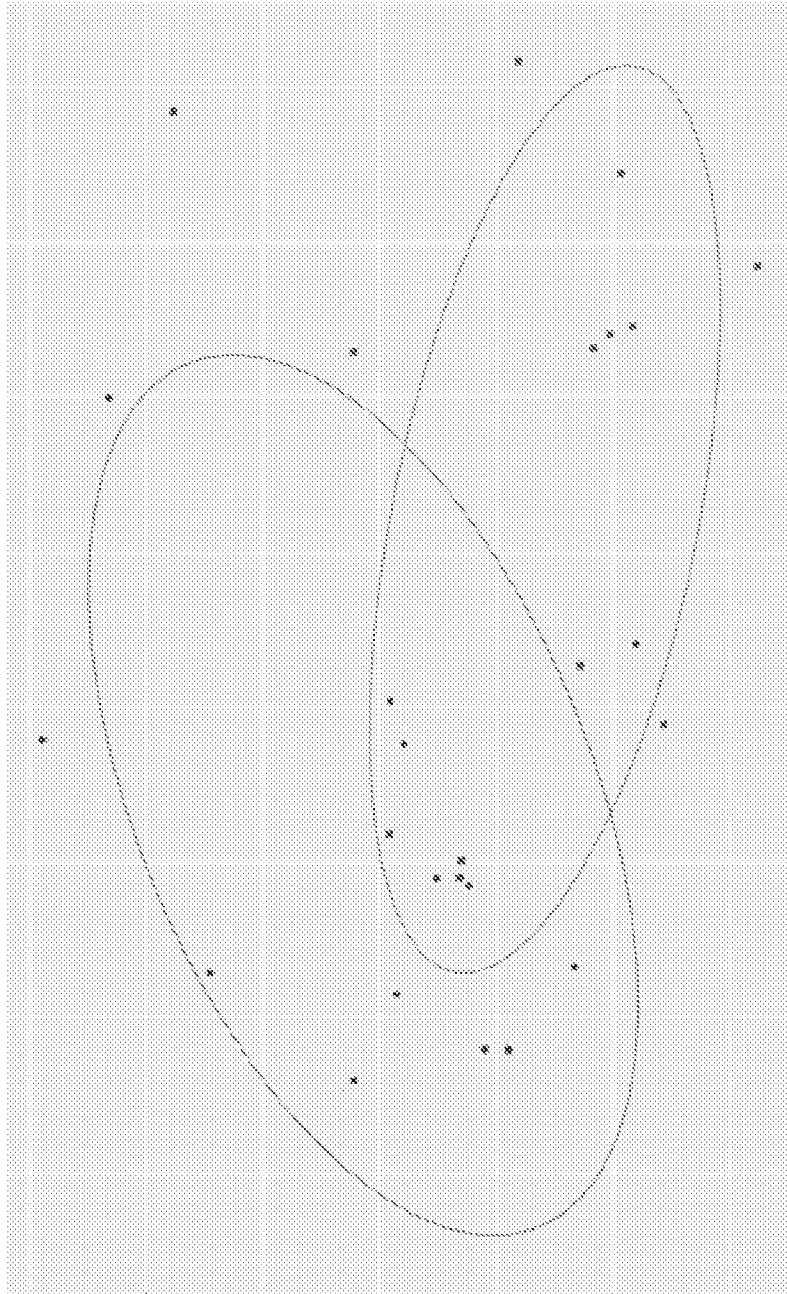


Figura 20

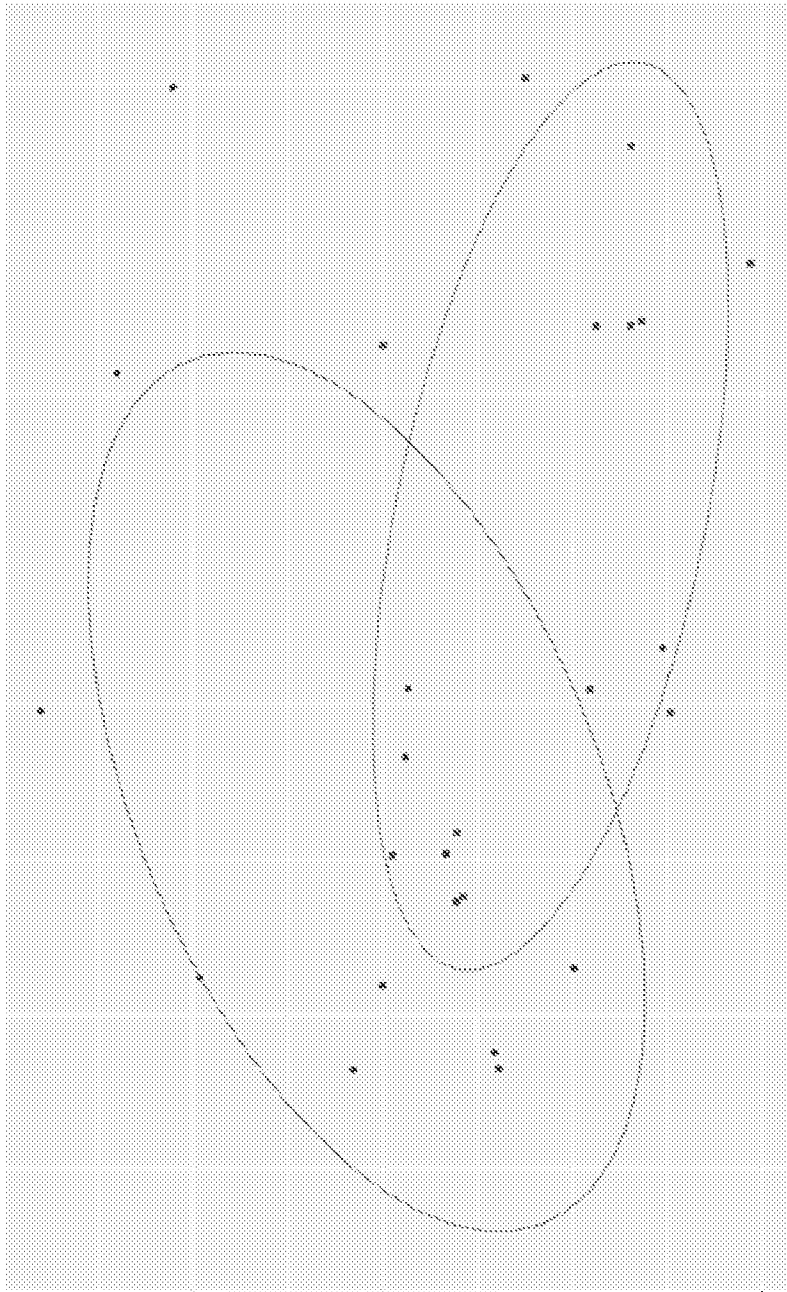


Figura 21

Matriz de confusión y estadísticas

		Referencia	
Predicción	NR	R	
NR	39	0	
R	0	39	

Precisión: 1

IC del 95%: (0.9538, 1)

Tasa de ausencia de información: 0.5

Valor p [Acc > NIR]: < 2.2e-16

Kappa : 1

Valor p de la prueba de McNemar: NA

Sensibilidad: 1.0

Especificidad: 1.0

Valor de predicción pos: 1.0

Valor de predicción neg: 1.0

Prevalencia: 0.5

Tasa de detección: 0.5

Prevalencia de detección: 0.5

Precisión balanceada: 1.0

Clase "positiva": R

Figura 22

Matriz de confusión y estadísticas

Referencia

Predicción	NR	R
NR	10	2
R	2	10

Precisión: 0.8333

IC del 95%: (0.6262, 0.9526)

Tasa de ausencia de información: 0.5

Valor p [Acc > NIR]: 0.0007719

Kappa : 0.6667

Valor p de la prueba de McNemar: 1.0000000

Sensibilidad: 0.8333

Especificidad: 0.8333

Valor de predicción positiva: 0.8333

Valor de predicción negativa: 0.8333

Prevalencia: 0.5000

Tasa de detección: 0.4167

Prevalencia de detección: 0.5000

Precisión balanceada: 0.8333

Clase "positiva": R

Figura 23

Matriz de confusión y estadísticas

		Referencia	
Predicción	NR	R	
	NR	92	2
	R	27	7

Precisión: 0,7734

IC del 95 %: (0,6911, 0,8427)

Tasa de ausencia de información: 0,9297

Valor p [Acc > NIR]: 1

Kappa: 0,2412

Valor p de la prueba de McNemar: 8,324e-06

Sensibilidad: 0,7731

Especificidad: 0,7778

Valor de predicción pos: 0,9787

Valor de predicción neg: 0,2059

Prevalencia: 0,9297

Tasa de detección: 0,7188

Prevalencia de detección: 0,7344

Precisión balanceada: 0,7754

Clase "positiva": NR

Figura 24

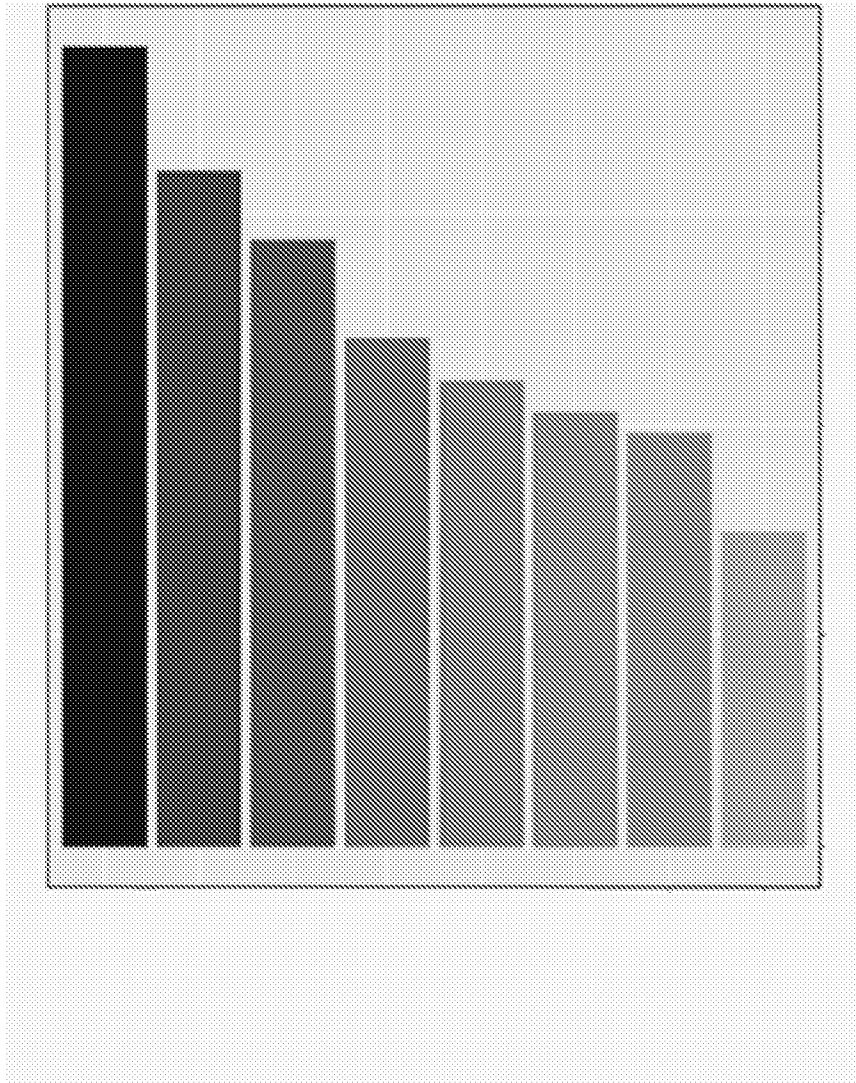


Figura 25

1	Marcador	Gen	Distancia	Rago_Modelo
2	OBD189_q065_q067	ITK	0	1
3	OBD189_q065_q067	CYFIP2	0	1
4	OBD189_q053_q055	CPB2	0	2
5	OBD189_q053_q055	LCP1	0	2
6	OBD189_q081_q083	IFT88	0	3
7	OBD189_q081_q083	IL17D	3493	3
8	OBD189_q893_q895	CCL8	0	4
9	OBD189_q893_q895	CCL13	0	4
10	OBD189_q893_q895	CCL13	0	4
11	OBD189_q049_q051	TNFSF8	0	5
12	OBD189_q049_q051	TNFSF15	49628	5
13	OBD189_q049_q051	TNC	90160	5
14	OBD189_q029_q031	TNFRSF25	0	6
15	OBD189_q029_q031	PLEKHG5	0	6
16	OBD189_q057_q059	PDCD1LG2	0	7
17	OBD189_q057_q059	CD274	25427	7
18	OBD189_q005_q007	CASP6	0	8
19	OBD189_q005_q007	PLA2G12A	0	8
20	OBD189_q005_q007	CFI	0	8

Figura 26

Calificación	Nombre	# Genes Coincidentes (Genes totales)	Fuentes
23,90	Super vía: Señalización inducida por PEDF	8 (745)	
21,90	Super vía: Señalización por NK-	6 (327)	
19,89	Super vía: Señalización Akt	7 (682)	
19,83	Super vía: Señalización PAK	7 (686)	
17,18	Super vía: Vía CCR5 en macrófagos	8 (322)	
16,80	Super vía: Translocación de ZAP-70 a sinapsis inmunológica	3 (46)	
16,44	Super vía: Apoptosis y supervivencia anti-apoptica via TNF/NF-kB/Bcl-2	3 (50)	
16,11	Super vía: Superfamilia TNF – Interacciones ligando – receptor humano y sus funciones asociadas	3 (54)	
14,67	Super vía: Señalización ERK	7 (1186)	
13,25	Super vía: Vía de las Integrinas	6 (570)	
13,19	Super vía: Superfamilia quimotina: Interacciones Ligando – Receptor Humano/Ratón	3 (107)	
12,74	Super vía: Señalización del receptor	3 (119)	
12,14	Super vía: Sistema inmune innato	8 (2124)	
10,88	Super vía: Adhesión celular_Gliconjugados célula-matriz	2 (39)	
10,82	Super vía: Vía TRAF	3 (188)	
10,42	Super vía: Vía TNFR1	3 (207)	
9,56	Super vía: Señalización vía IL 10	2 (62)	
8,87	Super vía: Vía TGF-Beta	4 (653)	
8,63	Super vía: Co-estimulación CD28	2 (86)	
8,57	Super vía: Vía Cascadas de complemento y coagulación	2 (88)	

Figura 27