

TRADUCCIÓN

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

A quien corresponda:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO - OFICINA DE PATENTES Y MARCAS

19 de septiembre de 2016

CERTIFICO QUE ADJUNTA A LA PRESENTE SE ENCUENTRA UNA COPIA FIEL DE LOS REGISTROS EN LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS DE LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE ABAJO IDENTIFICADA QUE REUNÍAN LOS REQUISITOS PARA LA ASIGNACIÓN DE UNA FECHA DE PRESENTACIÓN EN VIRTUD DE 35 USC 111.

SOLICITUD NÚMERO: 62/202.772

FECHA DE PRESENTACIÓN: 07 de agosto de 2015

El código de país y número de su solicitud de prioridad a ser utilizado para presentaciones en el exterior de acuerdo con el Convenio de París es: US62/202.772

En nombre del Funcionario a cargo de la Subsecretaria de Comercio, Propiedad Industrial e Intelectual y a cargo de la Oficina de Patentes y Marcas.
(Firmado) – M. TARVER – Certificaciones.

(La presente certificación se encuentra unida en forma inviolable a sus adjuntos y lleva una oblea dorada que dice): OFICINA DE PATENTES Y MARCAS - ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.

(Adjuntos)

ACUSE DE RECIBO ELECTRÓNICO

ID EFS:	23155339
Número de solicitud:	62202772
Número de confirmación:	5249
Título de la invención:	TERAPIA DE COMBINACIÓN DE VARIANTES DE SIRP-ALFA Y ANTICUERPOS
Nombre del primer inventor:	Jaume PONS
Número de cliente:	21559
Presentado por:	Michael J. Belliveau/Samantha O'Neil
Autorizado por:	Michael J. Belliveau
N° de expediente de agente:	51073-006002
Fecha de recibo:	07/08/2015
Sello fechador:	22:59:39
Tipo de solicitud:	Provisional

Información sobre pago

Presentado conjuntamente con el pago:	Sí
Forma de pago:	Cuenta de depósito
Pago recibido en RAM:	\$130
Número de confirmación RAM:	6226
Número de cuenta de depósito:	032095
Usuario autorizado:	BELLIVEAU, MICHAEL J.

Se autoriza al Director de la USPTO a cobrar los aranceles indicados y acreditar cualquier pago en exceso de acuerdo con lo siguiente:

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.16 del CFR 37.
(Aranceles de presentación de solicitud nacional, búsqueda y examen)

Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.17 del CFR 37. (Aranceles de tramitación de la solicitud de patente y reexamen)
Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.19 del CFR 37. (Arancel por provisión de documento)
Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.20 del CFR 37. (Costos de envío postal)
Cobrar cualquier arancel adicional requerido por el art 1.21 del CFR 37. (Otros aranceles)

Listado de archivos

Descripción del documento	Nombre del archivo	Tamaño del archivo (Bytes)	Partes múltiples / .zip	Páginas (si corresp)
1.	_Application_Combination_therapy.pdf	292229	Sí	67
Descripción de partes múltiples/Archivos PDF en.zip descripción				
Descripción del documento		Inicio		Fin
Memoria descriptiva		1		34
Reivindicaciones		35		66
Resumen		67		67
2. Página de datos técnicos de la solicitud	Application_Data_Sheet_Fillable_PDF.pdf	1822646	No	7
3. Carátula de solicitud provisional (SB16)	Provisional_Patent_Application_Transmittal_Fillable_PDF.pdf	1477738	No	3
4. Cálculo del arancel (SB06)	fee-info.pdf	29877	No	2
Tamaño total en bytes: 3622490				
El presente recibo constituye un acuse de recibo de la USPTO en la fecha				

mencionada de los documentos mencionados, caracterizados por el solicitante e incluye cantidad de páginas si corresponde. Constituye una evidencia de recibo similar a MPEP 503.

Solicitudes nuevas de acuerdo con 35 USC 111. Si se presenta una solicitud nueva y la solicitud incluye los componentes necesarios para obtener una fecha de presentación (véase: 37 CFR 1,53 (b)(d) y MPEP 506), oportunamente se emitirá un recibo de presentación (37 CFR 1,54) y la fecha que aparece en este recibo será considerada la fecha de presentación de esta solicitud.

Etapas nacionales de una solicitud internacional de acuerdo con 35 U.S.C.371

Si se presenta a tiempo la etapa nacional de una solicitud internacional cumpliendo con las condiciones establecidas por 35 USC 371 y otros requerimientos aplicables oportunamente se emitirá un formulario PCT/DO/EO/903 indicando la aceptación de la solicitud como presentación de etapa nacional de acuerdo con 35 USC 371 además del recibo de presentación.

Presentación de una solicitud internacional nueva a la USPTO como oficina receptora

Si se presenta una solicitud internacional nueva y la solicitud internacional incluye los componentes requeridos para la asignación de una fecha de presentación internacional (véase art.11 PCT y 1810 MPEP), oportunamente se emitirá una notificación del número de solicitud internacional y fecha de presentación internacional (Formulario PCT/RO/105) sujeto a las prescripciones relacionadas con seguridad nacional y a la fecha que exhibe este acuse de recibo. El recibo determinará la fecha de presentación internacional de la solicitud.

Código del documento: TR.PROV

Descripción del documento: Formulario para solicitud provisional (SB16)

PTO/SB/16 (11-08)

FORMULARIO PARA SOLICITUD PROVISIONAL

La presente solicitud es para presentación de una SOLICITUD DE PATENTE PROVISIONAL bajo el CRF 37, art 1.53 (c)

INVENTOR/ES

Nombre	Apellido	Ciudad	Estado	País
Jaume	PONS	San Francisco	CA	EE.UU.
Laura	DEMING	Palo Alto	CA	EE.UU.
Corey	GOODMAN	Marshall	CA	EE.UU.
Título de la Invención:		TERAPIA DE COMBINACIÓN DE VARIANTES DE SIRP-ALFA Y ANTICUERPOS		
Expediente de agente número:				51073-006002
Dirección postal: Número de cliente para correspondencia:				21559
La invención no fue realizada por una dependencia del Gobierno de los Estados Unidos ni por contrato con una dependencia del Gobierno de los Estados Unidos.				
El solicitante reivindica el status de pequeña empresa según 1.27 CFR 37.				
ADVERTENCIA: El peticionante/solicitante queda advertido de evitar la presentación de información personal en los documentos presentados en una solicitud de patente pueda usurpaciones de identidad. La USPTO nunca solicita información personal tal como números de seguridad social, nros. de cuentas				

bancarias, o números de tarjetas de crédito (salvo en el formulario PTO-2038 de autorización para cheques o tarjetas de crédito presentado con fines de pago), con las peticiones o solicitudes. Si este tipo de información personal estuviera incluido en los documentos a presentar ante la USPTO, los peticionantes/solicitantes deberían considerar la eliminación de dicha información personal de los documentos antes de su presentación. El peticionante/solicitante queda advertido de que el registro de una solicitud de patente queda disponible al público después de la publicación de la solicitud (salvo si se presenta un pedido de no publicación bajo 37 CFR 1.213(a) se incluye en la solicitud) o emisión de la patente. Además, el registro de las solicitudes abandonadas también puede ponerse a disposición del público si la solicitud es citada en una solicitud publicada o en una patente otorgada (ver 37 CFR 1.14). Los formularios PTO.2038 para pago con tarjeta de crédito o cheque no se retienen en el expediente de la solicitud y por lo tanto no quedan a disposición del público.

FIRMAS:	Véase el art. 1.4(D) del CFR 37.	Fecha:	07/08/2015
Nombre:	Michael J. Belliveau, Ph.D.	Nº de matrícula:	52608

Esta información es requerida por el art. 1.51 del CFR 37. La misma es requerida para la obtención o mantenimiento de un beneficio relacionado con la presentación de una solicitud (y su procesamiento por parte de USPTO). La confidencialidad se rige por el art. 122 del USC 35 y 1.14 del CFR 37. Se estima que el llenado de la información insume ocho horas incluyendo recolección, preparación y presentación de la solicitud completa a la USPTO. El tiempo variará según diferencias individuales. Cualquier comentario

referido al tiempo requerido para completar este formulario y/o sugerencias que puedan facilitar su ejecución serán enviadas a Chief Information Officer, US Patent and Trademark Office. US Department of Commerce; PO Box 1450, Alexandria Va 22313-1450. No enviar aranceles o documentos con información a esta dirección. Envíense estos a: Commissioner for Patents, PO Box 1450 Alexandria VA 22313-1450. Este formulario solamente puede ser utilizado para EFS-WEB. Si el mismo se envía a la USPTO será objeto de demoras en la tramitación de la solicitud provisional.

LEY DE PRIVACIDAD

La Ley de Privacidad de 1974 (P.L. 93-579) requiere que se provea cierta información en relación con la presentación del formulario adjunto relacionado con una solicitud de patente o patente, De acuerdo con lo requerido por la Ley, le informamos que: (1) la autoridad general con respecto a la recopilación de esta información es U.S.C. 35 2 (b); (2) la presentación de la información es voluntaria; y (3) el propósito principal para el cual la Oficina de Patentes de los EE UU utilizará esta información es procesar y/o examinar la presentación de una solicitud de patente o patente, Si no se presentara la información requerida, existe la posibilidad de que a la Oficina de Patentes y Marcas no le sea posible procesar y/o examinar la presentación, lo cual puede tener como consecuencia la finalización de los procedimientos o el abandono de la solicitud o expiración de la patente.

La información provista por el solicitante en el presente formulario está destinada normalmente a lo siguiente:

1. La información del presente formulario recibirá tratamiento confidencial en la

medida que lo permita la Ley de Libertad de Información (552 del U.S.C. 5) y Ley de Privacidad (552a del U.S.C. 5), Los contenidos provenientes del sistema del registro pueden ser revelados al Departamento de Justicia a fin de determinar si la revelación de estos registros es requerida por la Ley de Libertad de Información;

2. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros en el curso de la presentación de evidencia a una corte, magistrado o tribunal administrativo, incluyendo revelaciones al abogado oponente en el curso de las negociaciones;

3. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros a un miembro de Congreso que presente una solicitud con referencia a un individuo al cual pertenecen los registros, cuando dicho individuo ha solicitado la colaboración del Miembro del Congreso con respecto al asunto al cual se refiere el registro;

4. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al un contratista de una Agencia que necesite de tal información a fin de redactar un contrato, Las personas que reciben la información deberán cumplir los requerimientos de la Ley de Privacidad de 1974, según sus enmiendas, de acuerdo con 552^a (m) del U.S.C.5;

5. Como procedimiento de rutina, es posible revelar a la Oficina de la Organización de la Propiedad Intelectual Mundial, una Solicitud Internacional presentada bajo el Tratado de Cooperación en Patentes que se encuentre en este sistema, de acuerdo con el Tratado de Cooperación en Patentes;

6. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema

de registros a otra dependencia federal para revisión por motivos de Seguridad Nacional (181 U.S.C 35) y para revisión de acuerdo con la Ley de Energía Atómica (218 (c) U.S.C. 42;

7. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al Administrador de Servicios Generales o la persona designada por el mismo, durante una inspección de los registros realizada por GSA como parte de la responsabilidad de la institución de recomendar mejoras en las prácticas de manejo de los registros y programas, de acuerdo con 2904 y 2906 del U.S.C. 44, Tales revelaciones se realizarán de acuerdo con las leyes de GSA que gobiernan la inspección de registros con dicho propósito y otras directivas pertinentes (es decir, GSA o Comercio), Tales revelaciones no serán utilizadas para efectuar resoluciones con respecto a individuos;

8. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al público luego de la publicación de la solicitud de acuerdo con 122(b) del U.S.C. 35 o de la emisión de una patente de acuerdo con 151 del U.S.C. 35, Además, normalmente es posible revelar al público un registro, con las limitaciones impuestas por 1,14 del CFR 37, si el registro fue presentado en una solicitud luego abandonada o cuya tramitación ha finalizado y que es mencionada como referencia por una solicitud publicada, una solicitud abierta a la inspección del público o una patente emitida;

9. Como procedimiento de rutina, es posible que se revele un registro de este sistema de registros a una entidad reguladora o judicial, federal o local si la USPTO considera que existe una violación o violación potencial de una ley o reglamento.

PATENTE

Número de expediente del agente: 51073-006002

TERAPIA DE COMBINACIÓN DE VARIANTES DE SIRP-ALFA Y ANTICUERPOS

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La proteína reguladora de señal a (SIRP- α) es una proteína ampliamente expresada sobre la membrana de las células mieloides. La SIRP- α interacciona con CD47, una proteína ampliamente expresada en muchos tipos de células del cuerpo. La interacción de SIRP- α con CD47 previene la fagocitosis de "auto" células, las que de otra forma podrían ser reconocidas por el sistema inmunológico. Se ha observado que una alta expresión de CD47 sobre las células tumorales actúa, en la leucemia mieloide aguda y varios tipos de cáncer formados por tumores sólidos, como factor pronóstico negativo para la supervivencia. Se han explorado estrategias enfocadas en la alteración de la interacción entre CD47 y SIRP- α , tales como la administración de agentes que enmascaran a CD47 o a SIRP- α , como terapias anticáncer potenciales.

SÍNTESIS DE LA INVENCION

La presente invención presenta métodos para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o CD47 (por ejemplo, cáncer) en un sujeto que incluye administrar al sujeto (i) un polipéptido que incluye la variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad a (SIRP- α) y (ii) un anticuerpo; conjuntos de componentes que incluyen (i) y/o (ii) e instrucciones para la administración de (i) y/o (ii) a un sujeto; y composiciones que incluyen (i) y (ii). En algunas formas de realización, el polipéptido en la composición incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad fusionada a un monómero

de dominio Fc, una albúmina sérica bovina (HSA), un péptido de unión a albúmina, o un polímero (por ejemplo, un polímero de polietilenglicol (PEG). Las composiciones de la invención tienen una inmunogenicidad mínima, afinidad optimizada, y/o farmacocinética optimizada en relación a una SIRP- α de tipo salvaje. La invención también presenta composiciones farmacéuticas y métodos para usar las composiciones para tratar cánceres.

En un aspecto, la invención presenta un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o de CD47 en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad a (SIRP- α) y (ii) un anticuerpo.

En otro aspecto, la invención presenta un método para incrementar la fagocitosis de una célula blanco en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto (i) un polipéptido que incluye la variante D1 de SIRP- α y (ii) un anticuerpo. En algunas formas de realización, la célula blanco es una célula de cáncer.

En otro aspecto, la invención presenta un método para eliminar células T reguladoras en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto (i) un polipéptido que incluye la variante D1 de SIRP- α y (ii) un anticuerpo.

En otro aspecto, la invención presenta un método para matar una célula de cáncer en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto (i) un polipéptido que incluye la variante D1 de SIRP- α y (ii) un anticuerpo.

En otro aspecto, la invención también presenta una composición que incluye (i) un polipéptido que incluye a la variante D1 de SIRP- α y (ii) un anticuerpo. En algunas formas de realización, la composición tiene una

inmunogenicidad mínima. En algunas formas de realización, la composición tiene una afinidad optimizada para CD47. En algunas formas de realización, la composición tiene farmacocinética optimizada.

En otro aspecto, la invención también presenta una composición farmacéutica que incluye una composición de la invención que incluye (i) un polipéptido que incluye a la variante D1 de SIRP- α y (ii) un anticuerpo, y uno o más transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En algunas formas de realización, la variante D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia.

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄
KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 11), en donde X₁ es L, I o V; X₂ es V, L o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I o L; X₅ es I, T, S o F; X₆ es E, V o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P o R; X₁₀ es L, T o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L o V; y X₁₆ es F o V. y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1.

En algunas formas de realización, la variante tiene la siguiente secuencia

EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄
KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 14), en donde X₁ es L, I o V; X₂ es V, L o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I o L; X₅ es I, T, S o F; X₆ es E, V o

L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P o R; X₁₀ es L, T o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L o V; y X₁₆ es F o V y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un domino D1 de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 4.

En algunas formas de realización, la variante tiene la siguiente secuencia

EEEX₁QX₂IQPDKFVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID N°: 15), en donde X₁ es L, I o V; X₂ es V, L o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I o L; X₅ es I, T, S o F; X₆ es E, V o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P o R; X₁₀ es L, T o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L o V; y X₁₆ es F o V. y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un domino D1 de D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 5.

En algunas formas de realización, la variante tiene la siguiente secuencia

EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 16), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R;

X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V. y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un domino D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 6.

En algunas formas de realización, la variante de SIRP- α presente en la construcción de la variante de SIRP- α tiene la siguiente secuencia

EEEX₁QX₂IQPDKFVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄
KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 19),

donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V. y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un domino D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 9.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 11, 14-16, y donde X₁ es L, I, o V. En algunas formas de realización, X₂ es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X₃ es A o V. En algunas formas de realización, X₄ es A, I, o L. En algunas formas de realización, X₅ es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X₆ es E, V, o L. En algunas formas de realización, X₇ es K o R. En algunas formas de realización, X₈ es E o Q. En algunas formas de realización, X₉ es H, P, o R. En algunas formas de realización, X₁₀ es L, T, o G. En algunas formas de

realización, X_{11} es K o R. En algunas formas de realización, X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{14} es V o I. En algunas formas de realización, X_{15} es F, L, V. En algunas formas de realización, X_{16} es F o V.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 10 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje y tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 100 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje y tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 1000 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje y tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1, 4-6, y 9.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPR/TTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO:12), donde X, es L, I, o

V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 2.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia

EEEE₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILLCTX₄SLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 13), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 3.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃LHGTX₄TSX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRGKPS (SEQ ID NO: 17) donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L;

X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 7.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁ENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 20, donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 10.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 12, 13, 17, y 20 donde X, es L, I, o V. En algunas formas de realización, X₂ es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X₃ es A o V. En algunas formas de realización, X₄ es V, I, o L. En algunas formas de realización, X₅ es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X₆ es E, V, o L. En algunas formas de realización, X₇ es K o R. En algunas formas de realización, X₈ es E o Q. En algunas formas de realización, X₉ es H, P, o R. En

algunas formas de realización, X_{10} es S, T, o G. En algunas formas de realización, X_{11} es K o R. En algunas formas de realización, X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{14} es V o I. En algunas formas de realización, X_{15} es F, L, o V. En algunas formas de realización, X_{16} es F o V.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje I que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 10 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje y tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: SEQ ID NOs: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 100 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje y tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs:: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 1000 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje y tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs:: 2, 3, 7, y 10.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR

X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 18), donde X₁, es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a un dominio D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de SEQ ID NO: 18, donde X₁, es L, I, o V. En algunas formas de realización, X₂ es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X₃ es A o V. En algunas formas de realización, X₄ es A, I, o L. En algunas formas de realización, X₅ es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X₆ es E, V, o L. En algunas formas de realización, X₇ es K o R. En algunas formas de realización, X₈ es E o Q. En algunas formas de realización, X₉ es H, P, o R. En algunas formas de realización, X₁₀ es S, T, o G. En algunas formas de realización, X₁₁ es K o R. En algunas formas de realización, X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X₁₄ es V o I. En algunas formas de realización, X₁₅ es F, L, o V. En algunas formas de realización, X₁₆ es F o V.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 10 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 100 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 1000 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

En algunas formas de realización, la variante de un dominio D1 de SIRP- α tiene la siguiente secuencia

EEX₁X₂QX₃IQPDKX₄VX₅VAAGEX₆X₇X₈LX₉CTX₁₀ITSLX₁₁IPVGPIQWFRGA
GPX₁₂RX₁₃LIYNQX₁₄X₁₅GX₁₆FPRVTTVSX₁₇X₁₈TX₁₉RX₂₀NMDFX₂₁IX₂₂IX₂₃X₂₄IT
X₂₅ADAGTYXCX₂₆KX₂₇RKGSPDX₂₈X₂₉EX₃₀KSGAGTELSVRX₃₁KPS (SEQ ID
NO: 21), donde X₁ es E o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o, I; X₄ es S o F; X₅ es L
o S; X₆ es S o T; X₇ es A o V; X₈ es I o T; X₉ es H o R; X₁₀ es A, V, I, o L; X₁₁ es
I, T, S, o F; X₁₂ es A o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K o R; X₁₅ es E o Q; X₁₆ es H,
P, o R; X₁₇ es D o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K o R; X₂₀ es E o N; X₂₁ es S o
P; X₂₂ es S o R; X₂₃ es S o G; X₂₄ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R,
S, T, V, W, o Y; X₂₅ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o
Y; X₂₆ es V o I; X₂₇ es F, L, V; X₂₈ es D o está ausente; X₂₉ es T o V; X₃₀ es F o
V; y X₃₁ es A o G; y donde la variante tiene al menos una sustitución de

aminoácido con relación a un domino D1 de SIRP- α , de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante tiene la secuencia de SEQ ID NO: 21, donde X_1 es E o G. En algunas formas de realización, X_2 es L, I, o V. En algunas formas de realización, X_3 es V, L, o, I. En algunas formas de realización, X_4 es S o F. En algunas formas de realización, X_5 es L o S. En algunas formas de realización, X_6 es S o T. En algunas formas de realización, X_7 es A o V. En algunas formas de realización, X_8 es I o T. En algunas formas de realización, X_9 es H o R. En algunas formas de realización, X_{10} es A, V, I, o L. En algunas formas de realización, X_{11} es I, T, S, o F. En algunas formas de realización, X_{12} es A o G. En algunas formas de realización, X_{13} es E, V, o L. En algunas formas de realización, X_{14} es K o R. En algunas formas de realización, X_{15} es E o Q. En algunas formas de realización, X_{16} es H, P, o R. En algunas formas de realización, X_{17} es D o E. En algunas formas de realización, X_{18} es S, L, T, o G. En algunas formas de realización, X_{19} es K o R. En algunas formas de realización, X_{20} es E o N. En algunas formas de realización, X_{21} es S o P. En algunas formas de realización, X_{22} es S o R. En algunas formas de realización, X_{23} es S o G. En algunas formas de realización, X_{24} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{25} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En algunas formas de realización, X_{26} es V o I. En algunas formas de realización, X_{27} es F, L, V. En algunas formas de realización, X_{28} es D o está ausente. En algunas formas de realización, X_{29} es T o V. En algunas formas de realización, X_{30} es F o V. En algunas formas de realización, X_{31} es A o G.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de diez

sustituciones de aminoácidos en relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos en relación al dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 10 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 100 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, la variante se une a CD47 con por lo menos 1000 veces más afinidad de unión que el dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

En algunas formas de realización, el dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo no incluye las siguientes secuencias:

EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYN
QREGHFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEVK
SGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 22);
EEEVQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTLTSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
GHFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTY YCIKFRKGSPDTEFKSGAG
TELSVRAKPS (SEQ ID NO: 23);
EEEVQIIQPDKSVSVAAGESVILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARLLIYNQREG
PFPRVTTVSETTRRENIVDFISISNITPADAGTY YCVKLRKGSPDTEFKSGAGT
ELSVRAKPS (SEQ ID NO: 24);

EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLSPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
 GPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKLRKGSPDTEFKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID NO: 25);
 EEEIQVIQPDKSVSVAAGESVIIHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
 GRFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYCVKVRKGSPDTEVKSGA
 GTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 26);
 EEEVQIIQPDKSVSVAAGESIILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRE
 GRFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKLRKGSPDTEFKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID NO: 27);
 EEEVQLIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRE
 GPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKFRKGSPDTEVKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID NO: 28);
 EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ
 GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYCIKFRKGSPDDVEFKSGA
 GTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 29);
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARLLIYNQRQG
 PFPRVTTVSETTKRENIVDFSISISNITPADAGTYCYCVKFRKGSPDTEFKSGAGT
 ELSVRAKPS (SEQ ID NO: 30);
 EEEVQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQKQ
 GPFPRVTTISETTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKFRKGSPDTEFKSGAGT
 ELSVRAKPS (SEQ ID NO: 31); o
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ
 GPFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKFRKGSPDTEVKSGAG
 TELSVRAKPS (SEQ ID NO: 32).

En algunas formas de realización, el polipéptido incluye además un

dominio D2 de SIRP- α de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 33) por medio de un conector.

En algunas formas de realización, el polipéptido incluye además un dominio D3 de SIRP- α de tipo salvaje (por ejemplo, SEQ ID NO: 34) por medio de un conector.

En algunas formas de realización, el polipéptido además incluye un primer monómero del dominio Fc unido a los extremos N- o C- del polipéptido por medio de un conector. En algunas formas de realización, el primer monómero del dominio Fc es incapaz de formar un dominio FC o un dímero. En algunas formas de realización, el primer monómero del dominio Fc combina con un segundo monómero del dominio Fc para formar un dominio Fc o un dímero. En algunas formas de realización, el primer y segundo monómeros del dominio Fc incluyen sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización entre el primer y segundo monómeros del dominio Fc. En algunas formas de realización, cada uno del primer y segundo monómeros del dominio Fc incluye una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L352K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R, E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T, y K409I, con relación a la secuencia de IgG1 humana.

En algunas formas de realización, el primer y segundo monómeros del dominio Fc incluyen sustituciones de aminoácidos. En algunas formas de realización, el primer monómero del dominio Fc incluye T366W. En algunas

formas de realización, el segundo monómero del dominio Fc incluye T366S, L368A, y Y407V. En algunas formas de realización, el primer monómero del dominio Fc incluye D399K. En algunas formas de realización, el segundo monómero del dominio Fc incluye K409D.

En algunas formas de realización, el dominio Fc tiene una unión reducida al receptor Fcγ. En algunas formas de realización, el dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 y el primer y/o segundo monómero de dominio Fc incluyen, en relación con la secuencia de SEQ ID N°: 35. En algunas formas de realización, el dominio Fc es un subtipo de un anticuerpo IgG2 o IgG4. En algunas formas de realización, el dominio Fc es un subtipo de un anticuerpo IgG2 incluye las sustituciones de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID N°: 36.

En algunas formas de realización, el polipéptido incluye además una albúmina sérica humana (HSA) (SEQ ID NO: 37) o un péptido de unión a albúmina unido a los extremos N- o C- del polipéptido por medio de un conector. En algunas formas de realización, la HSA incluye la sustitución de aminoácidos C34S y/o K573P, con relación a la SEQ ID NO: 37. En algunas formas de realización, el péptido de unión a albúmina incluye la secuencia de SEQ ID NO: 38.

En algunas formas de realización, el conector es A o AAAL.

En algunas formas de realización, el polipéptido incluye además un polímero polietilenglicol (PEG). En algunas formas de realización, el polímero PEG está unido a una sustitución de cisteína en el polipéptido. En algunas formas de realización, la sustitución de cisteína es I7C, A16C, S20C, T20C, A45C, G45C, G79C, S79C, o A84C, en relación con la secuencia de cualquiera

de SEQ ID NOs: 11-21.

En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo para inmuno-oncología. En algunas formas de realización, el anticuerpo tiene una actividad de fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC).

En algunas formas de realización, el anticuerpo incluye un dominio Fc de un anticuerpo IgG2 o IgG4. En algunas formas de realización, el dominio Fc de un anticuerpo IgG2 incluye las sustituciones de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia SEQ ID NO: 36.

En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a una proteína expresada por una célula del sistema inmunitario. En algunas formas de realización, la célula del sistema inmune es una célula T. En algunas formas de realización, la célula T es una célula T reguladora. En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a CTLA4, PD1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM, CCR4, CD25, CD103, Klrp1, Nrp1, CD278, Gpr83, TIGIT, CD154, CD160, o PD1H.

En algunas formas de realización, el anticuerpo se dirige a un antígeno celular. En algunas formas de realización, el antígeno celular está en una célula de cáncer. En algunas formas de realización, el anticuerpo se une a 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7-H3, B7-H4, c-fms, C-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectina, FR-alfa, GCC, GD2, glypican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectin-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1,

PD-L2, PDGFR- α , PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1, o CSF-1R.

En algunas formas de realización, el anticuerpo es se selecciona entre el grupo formado por pembrolizumab, nivolumab, pidilizumab, MEDI0680, MEDI6469, Ipilimumab, tremelimumab, urelumab, vantictumab, varlilumab, mogamalizumab, y MSB0010718C.

En algunas formas de realización, el polipéptido y el anticuerpo se administran de manera substancialmente simultánea, seguido por administración del anticuerpo solo. En algunas formas de realización, el anticuerpo se administra primero, seguido por la administración substancialmente simultánea del polipéptido y el anticuerpo.

En otro aspecto, la invención presenta un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o de CD47 en un sujeto. El método incluye (a) determinar las secuencias de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y (b) administrar al sujeto un polipéptido que incluye una variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad a (SIRP- α) y un anticuerpo; en donde la variante D1 de SIRP- α de alta afinidad en el polipéptido tiene la misma secuencia de aminoácidos que la de una SIRP- α del sujeto.

En otro aspecto, la invención presenta un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o de CD47 en un sujeto. El método incluye; (a) determinar las secuencias de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y (b) administrar al sujeto un polipéptido que incluye una variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad a (SIRP- α) y un anticuerpo; en donde el polipéptido tiene inmunogenicidad mínima en el sujeto.

En otro aspecto, la invención presenta un conjunto de componentes que

incluye: (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad a (SIRP- α); (ii) un anticuerpo; y (iii) instrucciones para administrar (i) y (ii) a un sujeto que tiene una enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o de CD47.

En otro aspecto, la invención presenta un conjunto de elementos (kit) que incluye: (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de una proteína reguladora de señal (SIRP- α) de alta afinidad; y (ii) un anticuerpo y (iii) instrucciones para la administración de (i) y (ii) a un sujeto que tiene una enfermedad asociada con la actividad SIRP- α y/o CD47.

En otro aspecto, la invención presenta un conjunto de elementos (kit) que incluye: (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de una proteína reguladora de señal (SIRP- α) de alta afinidad; y (ii) instrucciones para la administración de (i) con un anticuerpo a un sujeto que tiene una enfermedad asociada con la actividad CD47 y/o SIRP- α .

En algunas formas de realización, la enfermedad es cáncer. En algunas formas de realización, el cáncer se selecciona entre cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer de pulmón, cáncer de bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, de colon y cáncer rectal, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula biliar, cáncer de tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer del cuello y, el cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel, carcinoma de células de Merkel, cáncer inducida por virus, neuroblastoma, cáncer de mama,

cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de las células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor cerebral, y carcinoma. En algunas formas de realización, el cáncer es un tumor sólido o un cáncer hematológico.

En algunas formas de realización, la enfermedad es una enfermedad autoinmune. En algunas formas de realización, la enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria. En algunas formas de realización, la enfermedad autoinmune o inflamatoria es esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpos, enfermedad de injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma, síndrome coronario agudo, reperfusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis o miositis autoinmune inflamatoria.

En otro aspecto la invención se ocupa de una composición que incluye (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad

y (ii) un anticuerpo.

En algunas formas de realización, la composición presenta una inmunogenicidad mínima. En algunas formas de realización, la composición tiene una afinidad optimizada por CD47. En algunas formas de realización, la composición tiene una farmacocinética optimizada.

En otro aspecto la invención se ocupa de una composición farmacéutica

que incluye una composición de la invención que se describe en la presente y uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, la invención se ocupa de un método para alterar una respuesta inmunológica en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto un polipéptido que comprende una variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo, alterando de ese modo la respuesta inmunológica en el sujeto. En algunas formas de realización, la alteración de la respuesta inmunológica incluye la supresión de la respuesta inmunológica

Definiciones

Según se usa en la presente, el término “dominio D1 de SIRP- α ” o “dominio D1” se refiere al dominio de la membrana distal, extracelular, de SIRP- α . El dominio D1 de SIRP- α está ubicado por el extremo N-terminal de una SIRP- α de tipo salvaje de longitud completa y media la unión a CD47. Las secuencias de aminoácidos de los dominios D1 se muestran en la Tabla 1.

Según se usa en la presente, el término “variante D1 de SIRP- α de alta afinidad” se refiere a un péptido que incluye un dominio D1 de SIRP- α , o una porción de unión a CD47-de una SIRP- α de longitud total, que tiene una afinidad de unión mayor por CD47 que una SIRP- α de tipo salvaje. La variante D1 de SIRP- α tiene al menos una sustitución de aminoácido con relación a una SIRP- α de tipo salvaje.

Según se usa en la presente, el término “dominio D2 de SIRP- α ” o “dominio D2” se refiere al segundo dominio extracelular de SIRP- α . El dominio D2 de la SIRP- α incluye aproximadamente los aminoácidos 119 a 220 de una SIRP- α de tipo salvaje de longitud completa.

Según se usa en la presente, el término “dominio D3 de SIRP- α ” o “dominio D3” se refiere al tercer dominio extracelular de SIRP- α . El dominio D3 de la SIRP- α incluye aproximadamente los aminoácidos 221 a 320 de una SIRP- α de tipo salvaje de longitud completa.

Según se usa en la presente, el término “anticuerpo” se refiere a anticuerpos intactos, fragmentos de anticuerpos, siempre que tengan la actividad biológica deseada, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoespecíficos y anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos)

Tal como se usa aquí, el término “anticuerpo inmuno-oncologico” se refiere a un anticuerpo que se dirige a células del sistema inmunitario incluyendo las células T reguladoras.

Tal como se usa en la presente, el término “conector” se refiere a una conexión entre dos elementos, por ejemplo, dominios proteicos. Un conector puede ser un enlace covalente o un espaciador. El término “enlace” se refiere a un enlace químico, por ejemplo, un enlace amida o un enlace disulfuro, o cualquier tipo de enlace creado a partir de una reacción química, por ejemplo, conjugación química. El término “espaciador” se refiere a una porción (por ejemplo, un polímero de polietilenglicol (PEG)) o una secuencia de aminoácidos (por ejemplo, una secuencia de entre 1 y 200 aminoácidos) que está entre dos polipéptidos o dominios polipeptídicos para proveer espacio y/o flexibilidad entre los dos polipéptidos o dominios polipeptídicos. Un espaciador de aminoácidos es parte de la secuencia primaria de un polipéptido (por ejemplo, unido a los polipéptidos o dominios polipeptídicos espaciados a través del esqueleto polipeptídico). La formación de enlaces disulfuro, por ejemplo,

entre dos regiones bisagra o dos monómeros de dominio Fc que forman un dominio Fc, no se considera como un conector.

Según se usa en la presente, el término “péptido de unión a albúmina” se refiere a una secuencia de aminoácidos de entre 12 y 16 aminoácidos que tiene afinidad por la albúmina de suero y su función es la de unirse a la misma. Un péptido de unión a albúmina puede ser de diferentes orígenes, por ejemplo, de humanos, de ratón o de rata. En algunas formas de realización de la presente invención, un polipéptido incluye un péptido de unión a albúmina que se fusiona al extremo C-terminal de la variante D1 de SIRP- α . de alta afinidad para aumentar la vida media en suero del polipéptido. El péptido de unión a albúmina se puede fusionar, ya sea directamente o a través de un enlace, a la variante D1 de SIRP- α de alta afinidad.

Según se usa en la presente, el término “albúmina de suero humana (HSA)” se refiere a la proteína albúmina presente en el plasma sanguíneo humano. La albúmina de suero humana es la proteína más abundante en la sangre. Constituye aproximadamente la mitad de las proteínas en suero sanguíneo. En algunas formas de realización, la albúmina de suero humana tiene la secuencia de los aminoácidos 25-609 (SEQ ID N°: 37) de UniProt, ID N°: P02768.

Según se usa en la presente, el término “monómero del dominio Fc” se refiere a una cadena de polipéptidos que incluye el segundo y tercer dominios constantes del anticuerpo (C_{H2} y C_{H3}). En algunas formas de realización, el monómero del dominio Fc también incluye un dominio bisagra. El monómero del dominio Fc puede ser cualquier isotipo de anticuerpo inmunoglobulina, incluyendo IgG, IgE, IgM, IgA o IgD. Adicionalmente, el monómero del dominio

Fc puede ser un subtipo de la IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 o IgG4). Un monómero del dominio Fc no incluye ninguna porción de una inmunoglobulina que pueda actuar como una región de reconocimiento del antígeno, por ejemplo, un dominio variable o una región determinante de complementariedad (CDR). Los monómeros del dominio Fc pueden incluir tanto como diez cambios con respecto a una secuencia del monómero del dominio Fc de tipo salvaje (por ejemplo, 1-10, 1-8, 1-6, 1-4 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos) que alteran la interacción entre un dominio Fc y un receptor Fc. Los ejemplos de cambios adecuados son conocidos en el arte.

Según se usa en la presente, el término “dominio Fc” se refiere a un dímero de dos monómeros del dominio Fc. En el dominio Fc de tipo salvaje, los dos monómeros del dominio Fc se dimerizan por la interacción entre los dos dominios constantes C_H3 del anticuerpo, así como uno o más enlaces disulfuro que se forman entre los dominios bisagra de los dos monómeros del dominio Fc que se dimerizan. En algunas formas de realización, el dominio Fc se puede mutar para que le falten las funciones efectoras, lo cual es típico de un “dominio Fc muerto”. En determinadas formas de realización, cada uno de los monómeros del dominio Fc en un dominio Fc incluye las sustituciones de aminoácidos en el dominio constante C_H2 del anticuerpo para reducir la interacción o unión entre el dominio Fc y un receptor Fcγ

Según se usa en la presente, el término “porcentaje (%) de identidad” se refiere al porcentaje de residuos de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de una secuencia candidato, por ejemplo, una variante de D1 de SIRP-α, que son idénticos a los residuos de aminoácidos (o ácidos nucleicos) de una secuencia de referencia, por ejemplo, una D1 de SIRP-α de tipo salvaje humana o una

porción de unión a CD47 de la misma, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si fuera necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad (es decir, se pueden introducir huecos en una o ambas secuencias candidato y de referencia para un alineamiento óptimo y las secuencias no homólogas se pueden descartar a efectos comparativos). El alineamiento para determinar el porcentaje de identidad se puede efectuar de varias maneras que son propias del conocimiento en el arte, por ejemplo, usando un software para computadora disponible al público, tal como el software BLAST, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los especialistas en el arte pueden determinar los parámetros apropiados para medir el alineamiento, que incluyan cualquier algoritmo necesario para lograr un alineamiento máximo sobre la longitud completa de las secuencias que están siendo comparadas. En algunas formas de realización, el porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de una secuencia candidato dada por, con o contra una secuencia de referencia dada (que, como alternativa, se podría formular como una secuencia candidato dada que tiene o incluye un porcentaje determinado de identidad de secuencia de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) por, con o contra una secuencia de referencia dada) se calcula de la siguiente manera:

$$100 \times (\text{fracción de } A/B)$$

donde A es el número de residuos de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) calificados como idénticos en el alineamiento de la secuencia candidato y la secuencia de referencia, y donde B es el número total de residuos de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) en la secuencia de referencia. En algunas formas de realización, en las cuales la longitud de la secuencia candidato no es igual a la longitud de la secuencia de referencia, el porcentaje

de identidad de secuencias de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de la secuencia candidato con la secuencia de referencia no sería igual al porcentaje de identidad de secuencias de aminoácidos (o de ácidos nucleicos) de la secuencia de referencia con la secuencia candidato.

En formas de realización particulares, una secuencia de referencia alineada para su comparación con una secuencia candidato puede mostrar que la secuencia candidato presenta entre un 50% y un 100% de identidad por toda la longitud completa de la secuencia candidato o una porción seleccionada de residuos de aminoácidos (o ácidos nucleicos) contiguos de la secuencia candidato. La longitud de la secuencia candidato alineada con fines comparativos es de por lo menos un 30%, por ejemplo, por lo menos un 40%, por ejemplo, por lo menos un 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o 100% de la longitud de la secuencia de referencia. Cuando una posición en la secuencia candidato está ocupada por el mismo residuo de aminoácido (o de ácido nucleico) que en la posición correspondiente en la secuencia de referencia, entonces las moléculas son idénticas en dicha posición.

Tal como se usa en la presente, el término “polipéptido” describe un polímero único donde los monómeros son residuos de aminoácidos unidos entre sí por enlaces de amida. Un polipéptido incluye cualquier secuencia de aminoácido que ocurra en la naturaleza, que sea recombinante o que sea producida sintéticamente.

Según se usa en la presente, el término “enfermedad asociada con la actividad de SIRP- α y/o CD47” se refiere a cualquier enfermedad o trastorno causado y/o relacionado con la actividad de SIRP- α y/o CD47. Por ejemplo, cualquier enfermedad o trastorno causado y/o relacionado con el aumento y/o

la disminución de la actividad de SIRP- α y/o CD47. Los ejemplos de enfermedades asociadas con la actividad de SIRP- α y/o de CD47 incluyen, pero en un sentido no taxativo, cánceres y enfermedades inmunológicas (por ejemplo, enfermedades autoinmunes y enfermedades inflamatorias).

Según se usa en la presente, el término “composición farmacéutica” se refiere a una formulación medicinal o farmacéutica que contiene un ingrediente activo, así como excipientes y diluyentes para facilitar al ingrediente activo adecuado para el método de administración. La composición farmacéutica de la presente invención incluye componentes farmacéuticamente aceptables que son compatibles con el polipéptido. La composición farmacéutica se puede encontrar en la forma de un comprimido o una cápsula para una administración por vía oral o en una forma acuosa para una administración intravenosa o subcutánea.

Según se usa en la presente, el término “afinidad” o “afinidad de unión” se refiere a la fuerza de la interacción de unión entre dos moléculas. En general, la afinidad de unión se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre una molécula y su miembro de unión, tal como una variante de la D1 de SIRP- α . y CD47. A menos que se indique de otra manera, la afinidad de unión se refiere a la afinidad de unión intrínseca, que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión. La afinidad de unión entre dos moléculas habitualmente se describe por la constante de disociación (K_D) o la constante de afinidad (K_A). Dos moléculas que tienen una baja afinidad de unión entre sí generalmente se unen lentamente, tienden a disociarse fácilmente y presentan un valor de K_D grande. Dos moléculas que tienen una gran afinidad entre sí en general se unen

fácilmente, tienden a permanecer unidas por más tiempo y presentan un valor de K_D pequeño. La K_D de dos moléculas que interactúan se puede determinar usando métodos y técnicas bien conocidas en el arte, por ejemplo, resonancia de plasmón superficial. La K_D se calcula como la relación de k_{off}/k_{on} .

Según se usa en la presente, el término “afinidad optimizada” o “afinidad de unión optimizada” se refiere a una fuerza optimizada de la interacción de unión entre un polipéptido que incluye una variante de la D1 de SIRP- α . y donde el polipéptido se une primariamente, o con mayor afinidad, a la CD47 en células cancerosas y no se une sustancialmente o se une con menor afinidad a la CD47 en células no cancerosas). La afinidad de unión entre el polipéptido y CD47 está optimizada de manera tal que la interacción no causa una toxicidad clínicamente relevante. En algunas formas de realización, a fin de lograr una afinidad de unión optimizada entre el polipéptido y la CD47, se puede desarrollar una variante de polipéptido que incluye D1 de SIRP- α . que tenga una menor afinidad de unión a CD47 que la máxima afinidad que se puede lograr.

Según se usa en la presente, el término “inmunogenicidad” se refiere a la propiedad de una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) que causa una respuesta inmunológica en el huésped como si fuera un antígeno extraño. La inmunogenicidad de una proteína puede evaluarse in vitro de muchas maneras diferentes, en particular mediante ensayos de proliferación de células T in vitro (véase, por ejemplo, Jawa y col., Clinical Immunology 149: 534-555, 2013), algunas de las cuales se encuentran disponibles comercialmente (véase, por ejemplo, los servicios de ensayos de inmunogenicidad ofrecidos por Proimmune).

Según se usa en la presente, el término “inmunogenicidad mínima” se refiere a la inmunogenicidad de una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) que fue modificada, es decir, mediante sustituciones de aminoácidos, para que sea menor (por ejemplo, por lo menos un 10%, 25%, 50% o 100% menos) de lo que hubiera sido antes de introducir las sustituciones de aminoácidos. Cuando se modifica una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) para que tenga una inmunogenicidad mínima significa que no genera o genera muy poca respuesta inmunológica en el huésped aún cuando se trata de un antígeno extraño.

Según se usa en la presente, el término “farmacocinética optimizada” se refiere a que los parámetros asociados en general con la farmacocinética de una proteína se mejoran y modifican para producir una proteína optimizada para su uso in vitro y/o in vivo. Los parámetros que están asociados con la farmacocinética de una proteína son bien conocidos por un especialista, incluyendo, por ejemplo, la K_D , la valencia y la vida media. En la presente invención, la farmacocinética de un polipéptido en una composición de la invención se optimiza para su interacción con la CD47 para su uso en un contexto terapéutico.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La invención presenta métodos para tratar una enfermedad (por ejemplo, cáncer) en un sujeto que incluyen administrar al sujeto (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad a (SIRP- α) y (ii) un anticuerpo; conjuntos de componentes que incluyen (i) y/o (ii) e instrucciones para la administración de (i) y/o (ii) a un sujeto; y composiciones que incluyen (i) y (ii). En algunas formas de realización, el

polipéptido en la composición incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad fusionada a un monómero de dominio Fc, una albúmina sérica bovina (HSA), un péptido de unión a albúmina, o un polímero (por ejemplo, un polímero de polietilenglicol (PEG)). En algunas formas de realización, el anticuerpo en la composición se direcciona contra un antígeno celular, tal como un antígeno celular en una célula neoplásica o una célula del sistema inmunológico (por ejemplo, una célula T, por ejemplo, una célula T reguladora). En algunas formas de realización, las composiciones de la invención incrementan la fagocitosis de una célula blanco (por ejemplo, una célula neoplásica), eliminan las células T reguladoras, matan una célula neoplásica, y/o tratan una enfermedad (por ejemplo, cáncer) en un sujeto. El polipéptido que incluye a la variante D1 de SIRP- α en las composiciones de la invención tiene inmunogenicidad mínima, afinidad optimizada, y/o farmacocinética optimizada en relación a una SIRP- α de tipo salvaje.

I. Variante D1 de la proteína reguladora de señal de alta afinidad (SIRP- α)

Existen por lo menos diez variantes de la SIRP- α de tipo salvaje humana. Las secuencias de aminoácidos de los dominios D1 de las diez variantes de la SIRP- α de tipo salvaje humana se muestran en las SEQ ID N°: 1-10 (véase la Tabla 1). Una variante de un dominio D1 de SIRP- α de alta afinidad incluye el dominio D1 de SIRP- α humana de tipo salvaje y una o más sustituciones de aminoácidos con respecto a estos dominios D1 de tipo salvaje. En la Tabla 2 se enumeran las posibles sustituciones de aminoácidos en cada variante del dominio D1 (SEQ ID N°: 11-21). Una variante de D1 de SIRP- α de alta afinidad se une con una afinidad de unión por una CD47 mayor que la de un dominio D1 de SIRP- α humana de tipo salvaje. En algunas formas de realización, la

variante de alta afinidad de D1 de SIRP- α se une a CD47 con una afinidad de unión optimizada, en la cual la variante D1 de SIRP- α se une primariamente o con mayor afinidad a la CD47 presente sobre células cancerosas y no se une sustancialmente o se une con menor afinidad a la CD47 presente sobre células no cancerosas. En algunas formas de realización, la afinidad de unión entre la variante D1 de SIRP- α y CD47 está optimizada de manera tal que la interacción no causa una toxicidad clínicamente relevante. En algunas formas de realización, la variante D1 de SIRP- α tiene una inmunogenicidad mínima. En algunas formas de realización, para administrarle a un sujeto una construcción de SIRP- α de la invención, la variante D1 de SIRP- α en la construcción comprende los mismos aminoácidos que los aminoácidos del polipéptido de SIRP- α en una muestra biológica del sujeto, excepto por los cambios de aminoácidos introducidos para aumentar la afinidad de la variante D1 de SIRP- α . Las técnicas y los métodos para generar las variantes D1 de SIRP- α de afinidad optimizada y determinar sus afinidades de unión a la CD47 se describen con más detalle en la presente.

En la Tabla 2 se enumeran las sustituciones de aminoácidos específicas en una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad, con relación a cada secuencia de variantes del dominio D1. Una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad puede incluir una o más (por ejemplo, una, dos, tres, cuatro, cinco, etc) de las sustituciones enumeradas en la Tabla 2. En algunas formas de realización, una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad incluye como máximo cinco sustituciones de aminoácidos con relación a un dominio D1 de tipo salvaje. Una variante D1 de la SIRP- α puede tener por lo menos 90% (por ejemplo, 90%, 92%, 95%, 97%, etc.) de identidad de secuencia de aminoácidos de una

secuencia de un dominio D1 de tipo salvaje.

En algunas formas de realización, una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad es una variante quimérica de D1 de una SIRP- α de alta afinidad que incluye una porción de dos o más variantes del dominio D1 de tipo salvaje (por ejemplo, una porción de una variante del dominio D1 de tipo salvaje y una porción de otra variante del dominio D1 de tipo salvaje). En algunas formas de realización, una variante D1 quimérica de SIRP- α de alta afinidad incluye por lo menos dos porciones (por ejemplo, tres, cuatro, cinco, etc.) de las variantes del dominio D1 de tipo salvaje, en donde cada una de las porciones es de una variante diferente del dominio D1 de tipo salvaje. En algunas formas de realización, una variante D1 quimérica de SIRP- α de alta afinidad también incluye una o más de las sustituciones de aminoácidos enumeradas en la Tabla 2.

Tabla 1. Secuencias de los dominios D1 de la SIRP- α de tipo salvaje

Variante 1 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 1)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGN ITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 2 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 2)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 3 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 3)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILLCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS

Variante 4 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 4)	EEGLQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 5 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 5)	EEELQVIQPDKFVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 6 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 6)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFPIRIGN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 7 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 7)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRGKPS
Variante 8 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 8)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 9 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 9)	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFR GAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS
Variante 10 del dominio D1 de tipo salvaje (SEQ ID N°: 10)	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFR GAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENMDFSISISN ITPADAGTYICVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRAKPS

Tabla 2. Sustituciones de aminoácidos en una variante D1 de la SIRP- α de afinidad optimizada, con relación a cada variante del dominio D1

v1 del dominio D1 (SEQ ID N°: 11)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFS I RIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTEL SVRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 11	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v2 del dominio D1 (SEQ ID N°: 12)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFS I SISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELS VRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 12	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v3 del dominio D1 (SEQ ID N°: 13)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILLCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFS I SISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELS VRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 13	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V

v4 del dominio D1 (SEQ ID N°: 14)	EEGX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFS I RIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPPDDVEX ₁₆ KSGAGTEL SVRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 14	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v4 del dominio D1 (SEQ ID N°: 15)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKFVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFS I RIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPPDDVEX ₁₆ KSGAGTEL SVRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 15	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v4 del dominio D1 (SEQ ID N°: 16)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFPI RIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPPDDVEX ₁₆ KSGAGTEL SVRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 16	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V

v7 del dominio D1 (SEQ ID N°: 17)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSI SISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELS VRGKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 17	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v8 del dominio D1 (SEQ ID N°: 18)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSI SISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDTEX ₁₆ KSGAGTELS VRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 18	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
v9 del dominio D1 (SEQ ID N°: 19)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFSI RISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDDVEX ₁₆ KSGAGTEL SVRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 19	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V

v10 del dominio D1 (SEQ ID N°: 20)	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWF RGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSI SISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPTDEX ₁₆ KSGAGTELS VRAKPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 20	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
Pan dominio D1 (SEQ ID N°: 21)	EEX ₁ X ₂ QX ₃ IQPDKX ₄ VX ₅ VAAGEX ₆ X ₇ X ₈ LX ₉ CTX ₁₀ TSLX ₁₁ PVG PIQWFRGAGPX ₁₂ RX ₁₃ LIYNQX ₁₄ X ₁₅ GX ₁₆ FPRVTTVSX ₁₇ X ₁₈ T X ₁₉ RX ₂₀ NMDFX ₂₁ IX ₂₂ IX ₂₃ X ₂₄ ITX ₂₅ ADAGTYCYX ₂₆ KX ₂₇ RKGS PDX ₂₈ X ₂₉ EX ₃₀ KSGAGTELSVRX ₃₁ KPS
Sustituciones de aminoácidos con relación a la SEQ ID N°: 21	X ₁ =E, G; X ₂ =L, I, V; X ₃ =V, L, I; X ₄ =S, F; X ₅ =L, S; X ₆ =S, T; X ₇ =A, V; X ₈ =I, T; X ₉ =H, R; X ₁₀ =A, V, I, L; X ₁₁ =I, T, S, F; X ₁₂ =A, G; X ₁₃ =E, V, L; X ₁₄ =K, R; X ₁₅ =E, Q; X ₁₆ =H, P, R; X ₁₇ =D, E; X ₁₈ =S, L, T, G; X ₁₉ =K, R; X ₂₀ =E, N; X ₂₁ =S, P; X ₂₂ =S, R; X ₂₃ =S, G; X ₂₄ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₂₅ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₂₆ =V, I; X ₂₇ =F, L, V; X ₂₈ =D o está ausente; X ₂₉ =T, V; X ₃₀ =F, V; and X ₃₁ =A, G

En algunas formas de realización, un polipéptido de una composición de la invención incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad unida al dominio D2 y/o D3 de una SIRP- α humana de tipo salvaje, mediante un conector. En algunas formas de realización, la variante el D1 de SIRP- α de alta afinidad puede estar unida a un monómero del dominio Fc, que puede ser incapaz de dimerizar, una albúmina de suero humano (HSA), péptidos o proteínas de unión a proteína sérica, o una molécula orgánica, por ejemplo, un

polímero (por ejemplo, un polímero polietilenglicol (PEG)), con el fin de mejorar las propiedades farmacocinéticas del polipéptido, por ejemplo, aumentar la vida media sérica, en una composición de la invención. Los monómeros de dominio Fc de la invención, proteínas HSA, proteínas de unión a suero o a péptidos, y moléculas orgánicas y tal como PEG que sirven para aumentar la vida media en suero de los polipéptidos de la invención se describen en detalle adicionalmente en este documento. En algunas formas de realización, un polipéptido en una composición de la invención no incluye la secuencia de ninguna de SEQ ID NOs: 22-32.

En algunas formas de realización, un polipéptido en una composición de la invención incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad no glicosilada. El dominio D1 de cada una de las diez proteínas humanas SIRP- α de tipo salvaje (SEQ ID NOs: 1 -10 en la Tabla 1) contiene un sitio de N-glicosilación potencial individual en el aminoácido N80 de la secuencia NaoITP. La expresión de un dominio D1 de SIRP- α en células de Ovario de Hámster Chino (CHO) resultó en una banda mayor de 16 kDa (no glicosilada) y una banda menor de peso molecular mayor que se eliminó por Endo Hf (véase, por ejemplo, Hatherley y col., J. Biol. Chem. 282:14567-14575, 2007). La Endo Hf es una proteína de fusión recombinante de Endoglicosidasa H y proteína de unión a maltosa. La Endo Hf escinde dentro del núcleo de quitobiosa de alta manosa y algunos oligosacáridos híbridos de glicoproteínas N-conectadas. Esto implica que una prolina en la posición de aminoácido 83 puede reducir la eficacia de glicosilación, conduciendo a una proteína con diferentes grados de glicosilación y por lo tanto heterogeneidad. Para el desarrollo de fármacos, la heterogeneidad puede dar origen a desafíos en el desarrollo de procesos. Por

lo tanto, para investigar la posibilidad de degenerar una forma homogénea, no glicosilada de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad, se puede mutar el aminoácido N80 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad a Ala. En algunas formas de realización, para elaborar una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad no glicosilada, se puede reemplazar el aminoácido N80 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad por cualquier aminoácido (o sea, cualquier aminoácido de origen natural), por ejemplo, N80A y N80Q.

En algunas formas de realización, un polipéptido en una composición de la invención incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad totalmente glicosilada. Otra opción para incrementar la homogeneidad del producto final es aumentar la eficacia de glicosilación en el aminoácido N80 y generar una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad totalmente glicosilada. El aminoácido P83 de la secuencia NITPs3a afecta el grado de glicosilación en el aminoácido N80. El cambio de P83 a cualquier aminoácido incrementará la eficacia de glicosilación en N80.

En algunas formas de realización, el aminoácido P83 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad se puede reemplazar por cualquier aminoácido (o sea, cualquier aminoácido de origen natural), por ejemplo, P83V P83A, P83I, o P83L (por ejemplo, P83V).

En algunas formas de realización, un polipéptido en una composición de la invención incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad no glicosilada. El dominio D1 de cada una de las diez proteínas humanas SIRP- α de tipo salvaje (SEQ ID NOS: 1 -10 en la Tabla 1) contiene un sitio de N-glicosilación potencial individual en el aminoácido N80 de la secuencia NaoITP. La expresión de un dominio D1 de SIRP- α en células de Ovario de Hámster Chino

(CHO) resultó en una banda mayor de 16 kDa (no glicosilada) y una banda menor de peso molecular mayor que se eliminó por Endo Hf (véase, por ejemplo, Hatherley y col., J. Biol. Chem. 282:14567-14575, 2007). La Endo Hf es una proteína de fusión recombinante de Endoglycosidase H y proteína de unión a maltosa. La Endo Hf escinde dentro del núcleo de quitobiosa de alta manosa y algunos oligosacáridos híbridos de glicoproteínas N-conectadas. Esto implica que una prolina en la posición de aminoácido 83 puede reducir la eficacia de glicosilación, conduciendo a una proteína con diferentes grados de glicosilación y por lo tanto heterogeneidad. Para el desarrollo de fármacos, la heterogeneidad puede dar origen a desafíos en el desarrollo de procesos. Por lo tanto, para investigar la posibilidad de generar una forma homogénea, no glicosilada de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad, se puede mutar el aminoácido N80 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad a Ala. En algunas formas de realización, para elaborar una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad no glicosilada, se puede reemplazar el aminoácido N80 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad por cualquier aminoácido (o sea, cualquier aminoácido de origen natural), por ejemplo, N80A y N80Q.

En algunas formas de realización, un polipéptido en una composición de la invención incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad totalmente glicosilada. Otra opción para incrementar la homogeneidad del producto final es aumentar la eficacia de glicosilación en el aminoácido N80 y generar una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad totalmente glicosilada. El aminoácido P83 de la secuencia NITPs3 afecta el grado de glicosilación en el aminoácido N80. El cambio de P83 a cualquier aminoácido incrementará la eficacia de glicosilación en N80.

En algunas formas de realización, el aminoácido P83 de una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad se puede reemplazar por cualquier aminoácido (o sea, cualquier aminoácido de origen natural), por ejemplo, P83V P83A, P83I, o P83L (por ejemplo, P83V).

Anticuerpo

Un anticuerpo en una composición de la presente invención se refiere a un anticuerpo que se dirige contra una célula, tal como una célula neoplásica o una célula del sistema inmunológico, tal como una célula T (por ejemplo, una célula T reguladora). Un anticuerpo puede ser de cualquier isotipo de anticuerpo de inmunoglobulina, por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgA, o IgD. El término “anticuerpo” se usa en la presente documentación en su sentido más amplio y abarca a diversas estructuras de anticuerpo, incluyendo a título enunciativo no taxativo a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), y fragmentos de anticuerpo siempre y cuando los mismos exhiban la actividad deseada. El término “fragmentos de anticuerpo” incluye una porción de un anticuerpo intacto, preferentemente la región de unión a antígeno o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen a los fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, y Fv, dianticuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena individual, y anticuerpos multiespecíficos. El término anticuerpo monoclonal se refiere a un anticuerpo que se obtiene a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, o sea, los anticuerpos individuales de la población tienen la misma secuencia primaria excepto por posibles mutaciones de origen natural que puedan estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente

específicos y se dirigen contra un sitio antigénico individual (o sea, un epítopo o un antígeno de cáncer). Contrariamente a las preparaciones de anticuerpos policlonales que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes epítopes, cada monoclonal anticuerpo se dirige contra un epítopo individual sobre el antígeno. El modificador “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo de haber sido obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, y no se debe interpretar como requiriendo la producción del anticuerpo por ningún método en particular.

Un anticuerpo en una composición de la presente invención produce fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC).

Un anticuerpo puede ser un anticuerpo inmuno-oncológico. Los anticuerpos que se pueden usar en las composiciones de la invención incluyen no taxativamente pembrolizumab, nivolumab, pidilizumab, MEDI0680, MEDI6469, Ipilimumab, tremelimumab, urelumab, vantictumab, varlilumab, mogamalizumab, y MSB0010718C. En algunas formas de realización, un anticuerpo se puede dirigir a células de cáncer, por ejemplo, por unión a proteínas expresadas por las células cancerígenas. Algunas proteínas se expresan a niveles más altos en células cancerígenas que en células no cancerígenas. Por ejemplo, un antígeno del cáncer es una proteína que expresan preferencialmente las células de cáncer (es decir, se expresa a niveles más elevados en las células cancerígenas que en las no cancerígenas) y en algunos casos es expresado solamente por las células cancerígenas. Algunos ejemplos de proteínas, por ejemplo, las proteínas expresadas por las células cancerígenas, que pueden ser blanco del anticuerpo en una

composición de la invención incluyen no taxativamente, 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7-H3, B7-H4, c-fms, C-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectina, FR-alfa, GCC, GD2, glypican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectin-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1, PD-L2, PDGFR-a, PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1, y CSF-1R.

En algunas formas de realización, un anticuerpo se puede dirigir a células del sistema inmunitario, tal como células T, por ejemplo las células T reguladoras, por unión a proteínas expresadas por células del sistema inmunológico. Algunos ejemplos de proteínas, por ejemplo, proteínas expresadas por células del sistema inmunológico incluyen no taxativamente, CTLA4, PD1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM, CCR4, CD25, CD103, Klrkl, Nrpl, CD278, Gpr83, TIGIT, CD154, CD160, y PD1H. Es posible diseñar un anticuerpo de modo que se una con mayor preferencia que otras células del sistema inmunitario a proteínas (por ejemplo, receptores) expresadas por células T (por ejemplo, células T reguladoras). En algunas formas de realización, un anticuerpo de una composición de la invención puede incluir un dominio Fc de subclase IgG2 o IgG4.

III. Dominio Fc

En algunas formas de realización, es posible fusionar un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad de una composición de la

invención a un monómero del dominio Fc de una inmunoglobulina o un fragmento de un monómero del dominio Fc. Tal como se estableció convencionalmente en el arte, un dominio Fc es una estructura proteica que se encuentra en C-terminal de una inmunoglobulina. Un dominio Fc incluye dos monómeros del dominio Fc que están dimerizados por la interacción entre los dominios constantes del anticuerpo CH3. Un dominio Fc de tipo salvaje forma la estructura mínima que se une a un receptor Fc, por ejemplo, FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA, FcγRNIB, FcγRIV. En la presente invención, un monómero de dominio Fc o un fragmento de un dominio Fc fusionado a un polipéptido en una composición de la invención para aumentar la vida media del polipéptido puede incluir un dímero de dos monómeros del dominio Fc o un monómero del dominio Fc, siempre que el monómero del dominio Fc se pueda unir al receptor Fc (por ejemplo, un receptor FcRn). Además, un dominio Fc o un fragmento del dominio Fc fusionado a un polipéptido para aumentar la vida media sérica del polipéptido no induce ninguna respuesta relacionada con el sistema inmunitario. En algunas formas de realización, un dominio Fc puede mutarse para que carezca de funciones efectoras, típicas de un dominio FC "muerto". Por ejemplo, un dominio Fc puede incluir sustituciones de aminoácidos específicas que se sabe minimizan la interacción entre el dominio Fc y un receptor Fcγ. En algunas formas de realización, un monómero del dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 e incluye sustituciones de aminoácidos L234A, L235A, y G237A. En algunas formas de realización, un monómero del dominio Fc es de un anticuerpo IgG2 o IgG4 o incluye sustituciones de aminoácidos A330S y P331S. Las posiciones de aminoácidos mencionadas anteriormente se definen de acuerdo con Kabat (Sequences of Proteins of Immunological

Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). La numeración de Kabat de residuos de aminoácidos se puede determinar para un anticuerpo dado por alineación de las regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada “estándar” de Kabat.

En algunas formas de realización, un dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 e incluye sustituciones de aminoácidos L14A, L15A, y G17A, con relación a la secuencia de SEQ ID NO: 35. En algunas formas de realización, un monómero del dominio Fc es de un anticuerpo IgG2 o IgG4 e incluye sustituciones de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID NO: 36.

En algunas formas de realización, el C- terminal de un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención se puede fusionar al N-terminal de un monómero del dominio Fc por medios genéticos o químicos convencionales, por ejemplo, conjugación química. Si se desea, es posible insertar un conector (por ejemplo, un espaciador) entre el polipéptido y el monómero del dominio Fc. En algunas formas de realización, el polipéptido se fusiona a un monómero del dominio Fc que es incapaz de formar un dímero. En algunas formas de realización, el polipéptido se fusiona a un monómero del dominio Fc que es capaz de formar un dímero, por ejemplo, un heterodímero, con otro monómero del dominio Fc. En algunas formas de realización, un polipéptido se fusiona a un monómero del dominio Fc y esta proteína de fusión puede formar un homodímero. En algunas formas de realización, un polipéptido se fusiona a un primer monómero del dominio Fc y un péptido o proteína diferente (por ejemplo, albúmina de suero

humano o péptido de unión a albúmina) se fusiona a un segundo monómero del dominio Fc, donde el primer y segundo monómeros del dominio Fc pueden formar un heterodímero.

Heterodimerización de monómeros de dominio Fc

En algunas formas de realización, cada uno de los dos monómeros de dominio Fc en un dominio Fc incluye sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización de los dos monómeros. La heterodimerización de monómeros de dominio Fc puede ser promovida por la introducción de sustituciones diferentes, pero compatibles, en los dos monómeros de dominio Fc, tales como los pares de residuos “botón en ojal” y pares de residuos cargados. El uso de pares de residuos “botón en ojal” se describe en Carter y colaboradores (Ridgway y col., Protein Eng. 9:617-612, 1996; Atwell y col., J Mol Biol. 270:26-35, 1997; Merchant y col., Nat Biotechnol. 16:677-681, 1998). La interacción botón en ojal favorece la formación de heterodímero, mientras que la interacción botón-botón y ojal-ocal impide la formación del homodímero debido a colisiones estéricas y la eliminación de interacciones favorables. La técnica “botón en ojal” también se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. No. 8.216.805, Merchant y col., Nature Biotechnology 16:677-681, 1998 y Merchant y col., Proc Natl Acad Sci U S A. 110:E2987–E2996, 2013, cada una de las cuales se incorpora en su totalidad a modo de referencia a la presente. Un ojal es un hueco que se crea cuando se reemplaza un aminoácido original en una proteína por un aminoácido diferente que tiene un volumen de cadena lateral más pequeño. Un botón es una saliente que se crea cuando se reemplaza un aminoácido original en una proteína por un aminoácido diferente que tiene un

volumen de cadena lateral más grande. Específicamente, el aminoácido que está siendo reemplazado está en el dominio constante del anticuerpo C_H3 de un monómero de dominio Fc y está involucrado en la dimerización de dos monómeros de dominio Fc. En algunas formas de realización, se crea un ojal en un dominio constante de anticuerpo C_H3 para acomodar un botón en otro dominio constante de anticuerpo C_H3, tal que los aminoácidos del botón y del ojal actúen para promover o en favor de la heterodimerización de los monómeros de dominio Fc. En algunas formas de realización, un ojal en uno de los dominios constantes de anticuerpo C_H3 se crea para acomodar mejor un aminoácido original en otro dominio constante de anticuerpo C_H3. En algunas formas de realización, se crea un botón en un dominio constante de anticuerpo C_H3 para formar interacciones adicionales con los aminoácidos originales en otro dominio constante de anticuerpo C_H3

Un botón puede construirse por reemplazo de los aminoácidos que tienen cadenas laterales más grandes tales como tirosina o triptofano por aminoácidos que tienen cadenas laterales más pequeñas tales como alanina, valina, o treonina, tal como la mutación Y407V en el dominio constante de anticuerpo C_H3. Similarmente, un botón puede construirse por reemplazo de aminoácidos que tienen cadenas laterales más pequeñas por aminoácidos que tienen cadenas laterales más grandes, tal como la mutación T366W en el dominio constante de anticuerpo C_H3. En una forma de realización preferida, un monómero de dominio Fc incluye la mutación de botón T366W y el otro monómero de dominio Fc incluye las mutaciones de ojal T366S, L358A y Y407V. Es posible fusionar un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención a un monómero del

dominio Fc que incluye una mutación de botón T366W para limitar la formación de un homodímero botón - botón. Los ejemplos de pares de aminoácidos botón en ojal se incluyen, sin limitación, en la Tabla 3.

Tabla 3

Monómero del dominio Fc 1	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L358A Y407V	T394W Y407T	T394S Y407A	T366W T394S
Monómero del dominio Fc 2	T366Y	T366 W	T394 W	F405 W	T366 W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A

Además de la estrategia de botón en ojal, también puede usarse la estrategia de atracción electrostática para controlar la dimerización de los monómeros de dominio Fc. La atracción electrostática es la utilización de interacciones electrostáticas favorables entre aminoácidos con carga opuesta en péptidos, dominios proteicos y proteínas para controlar la formación de moléculas proteicas de mayor orden. En particular, para controlar la dimerización de los monómeros de dominio Fc usando la atracción electrostática, uno o más residuos aminoacídicos que constituyen la interfaz CH3-CH3 se reemplazan por residuos aminoacídicos cargados positiva o negativamente tal que la interacción se vuelva electrostáticamente favorable o desfavorable dependiendo de los aminoácidos cargados específicos introducidos. En algunas formas de realización, se reemplaza un aminoácido cargado positivamente en la interfaz, tal como lisina, arginina, o histidina, por un aminoácido cargado negativamente tal como ácido aspártico o ácido glutámico. En algunas formas de realización, se reemplaza un aminoácido cargado negativamente por un aminoácido cargado positivamente. Los aminoácidos cargados pueden introducirse en uno de los dominios constantes de anticuerpo

CH3 que interactúan, o en ambos. La introducción de aminoácidos cargados a los dominios constantes de anticuerpo CH3 de los dos monómeros de dominio Fc puede promover la formación selectiva de heterodímeros de monómeros de dominio Fc controlado por los efectos de atracción electrostática que resulta de la interacción entre los aminoácidos cargados. La técnica de atracción electrostática también se describe en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. No. 20140024111, Gunasekaran y col., J Biol Chem. 285:19637-46, 2010 y Martens y col., Clin Cancer Res. 12:6144-52, 2006, cada una de las cuales se incorpora en su totalidad a modo de referencia a la presente. Los Ejemplos de pares de aminoácidos de atracción electrostática se incluyen, sin limitación, en la Tabla 4.

Tabla 4

monómero del dominio Fc 1	K409D	K409D	K409E	K409E	K392D	K392D	K392E	K392E	K409D K392D	K370E K409D K439E
monómero del dominio Fc 2	D399K	D399R	D399K	D399R	D399K	D399R	D399K	D399R	D399K D356K	D356K E357K D399K

Albúmina sérica

La fusión a albúminas séricas puede mejorar la farmacocinética fármacos que contienen proteínas, y en particular, un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención que se describe en la presente puede unirse con una albúmina sérica.

La albúmina sérica es una proteína globular que es la proteína

sanguínea más abundante en los mamíferos. La albúmina sérica se produce en el hígado y constituye aproximadamente la mitad de las proteínas séricas de la sangre. Es monomérica y soluble en la sangre. Algunas de las funciones más cruciales de la albúmina sérica incluyen el transporte de hormonas, ácidos grasos y otras proteínas en el cuerpo, amortiguación del pH y mantenimiento de la presión osmótica requerida para la distribución adecuada de los fluidos corporales entre los vasos sanguíneos y los tejidos corporales. En formas de realización preferidas, la albúmina sérica es albúmina sérica humana (HSA). En algunas formas de realización de la presente invención, una HSA se une al C-terminal del polipéptido para aumentar la vida media sérica del polipéptido. En algunas formas de realización, el N- terminal de una HSA se une al C- terminal del polipéptido. Es posible unir una HSA al C- terminal del polipéptido. de manera directa o mediante un conector. En algunas formas de realización, una HSA se une al N- terminal del polipéptido de manera directa o mediante un conector.

Las HSA que se pueden utilizar en los métodos y composiciones que aquí se describen son, en general, conocidas en la técnica. En algunas formas de realización, la HSA incluye los aminoácidos 25-609 (SEQ ID NO: 37) de la secuencia de UniProt ID NO: P02768. En algunas formas de realización, la HSA incluye una sustitución de aminoácidos C34S y/o K573P, en relación con la SEQ ID NO: 37.

Una albúmina sérica puede fusionarse genéticamente a un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención o unirse al polipéptido a través de medios químicos, por ejemplo, conjugación química. Si se desea, puede insertarse un espaciador

entre el polipéptido y la HSA. En la presente se describen en detalle algunos ejemplos de espaciadores. En algunas formas de realización, un espaciador puede ser A o AAAL.

V. Péptidos de unión a albúmina

La unión a proteínas séricas puede mejorar la farmacocinética de fármacos proteicos y en particular las variantes de un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención descritas en la presente pueden fusionarse con péptidos o proteínas de unión a proteínas séricas.

En algunas formas de realización, un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención puede fusionarse a un péptido de unión a albúmina que presenta actividad de unión a albúmina sérica para aumentar la vida media del polipéptido. Los péptidos de unión a albúmina que pueden usarse en los métodos y composiciones descritas en la presente se conocen de manera general en el arte. Véase, por ejemplo, Dennis y col., J. Biol. Chem. 277:35035-35043, 2002 y Miyakawa y col., J. Pharm. Sci. 102:3110-3118, 2013. En una forma de realización, el péptido de unión a albúmina incluye la secuenciaDICLPRWGCLW (SEQ ID NO: 38 Un péptido de unión a albúmina puede fusionarse genéticamente al polipéptido o unirse al polipéptido a través de medios químicos, por ejemplo, conjugación química. Si se desea, puede insertarse un espaciador entre el polipéptido y el péptido de unión a albúmina para permitir una flexibilidad estructural y espacial adicional de la proteína de fusión. Los conectores específicos (por ejemplo, un espaciador) y sus secuencias de aminoácidos se describen con detalle más adelante en la

presente. En algunas formas de realización, puede fusionarse un péptido de unión a albúmina al extremo N o C terminal del polipéptido. En un ejemplo, el extremo N terminal del péptido de unión a albúmina puede fusionarse directamente al extremo C-terminal del polipéptido mediante un enlace peptídico. En aún otro ejemplo, el C-terminal del péptido de unión a albúmina puede fusionarse directamente al N-terminal del polipéptido a través de un enlace peptídico.

VI. Polímero de polietilenglicol (PEG)

En algunas formas de realización, un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención también se puede fusionar con un polímero, por ejemplo, polietilenglicol (PEG). La unión de un polímero a un fármaco proteico puede “enmascarar” el fármaco proteico del sistema inmunológico del huésped (Milla y col., Curr Drug Metab. 13:105-119, 2012). Adicionalmente, determinados polímeros, por ejemplo, polímeros hidrofílicos, también pueden proveer solubilidad en agua a proteínas y fármacos hidrofóbicos (Gregoriadis et al., Cell Mol. Life Sci. 57:1964-1969, 2000; Constantinou et al., Bioconjug. Chem. 19:643-650, 2008). En el arte se conocen varios polímeros tales como PEG, cadena de ácido polisiálico (Constantinou y col., Bioconjug. Chem. 19:643-650, 2008) y cadena PAS (Schlapschy y col., Protein Eng. Des. Sel. 26:489-501, 2013), y pueden ser utilizados en la presente invención. En algunas formas de realización. En algunas formas de realización, un polímero, por ejemplo, PEG, puede unirse covalentemente a una sustitución o adición de cisteína en el polipéptido. La sustitución de cisteína en el polipéptido puede ser I7C, A16C, S20C, T20C, A45C, G45C, G79C, S79C, o A84C, en relación a la secuencia de una

cualquiera de las SEQ ID NOs: 11 -21. La adición de un residuo cisteína en el polipéptido se puede introducir mediante técnicas convencionales en el arte, por ejemplo, síntesis de péptidos, modificación genética, y/o clonado molecular. El polímero, por ejemplo, PEG, puede unirse al residuo cisteína usando conjugación de cisteína-maleimida bien conocida para una persona con experiencia en el arte. En algunas formas de realización, un polímero, por ejemplo, PEG, puede unirse covalentemente al polipéptido incluyendo una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad in a composition de la invención en el extremo N o C terminal o en un lugar interno, usando métodos químicos convencionales, por ejemplo, conjugación química. Los contenidos de las publicaciones referidas se incorporan a la presente a modo de referencia en su totalidad.

VII. Conectores

En la presente invención, un conector se usa para describir una unión o conexión entre polipéptidos o dominios proteicos y/o porciones no proteicas asociadas. En algunas formas de realización, un conector es una unión o conexión entre un monómero de dominio Fc, un péptido de unión a albúmina, o un HSA, y un polipéptido que incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad es una composición de la invención. En algunas formas de realización, el conector conecta el extremo C-terminal de la variante D1 de SIRP- α y el extremo N-terminal del monómero de dominio Fc, el péptido de unión a albúmina, o el HSA, de forma que los dos polipéptidos se unen entre sí en una serie en tándem.

Un conector puede ser un enlace covalente simple, por ejemplo, un enlace peptídico, un polímero sintético, por ejemplo, un polímero de

polietilenglicol (PEG), o cualquier tipo de enlace creado a partir de una reacción química, por ejemplo conjugación química. En el caso de que el conector sea un enlace peptídico, el grupo ácido carboxílico en el extremo C-terminal de un dominio proteico puede reaccionar con el grupo amino del extremo N-terminal de otro dominio proteico en una reacción de condensación para formar un enlace peptídico. Específicamente, el enlace peptídico puede estar formado por medios sintéticos a través de una reacción química orgánica convencional bien conocida en el arte, o mediante producción natural a partir de una célula huésped, en donde se puede transcribir directamente una molécula de ácido nucleico que codifica para las secuencias de ADN de ambas proteínas, por ejemplo, un monómero de dominio Fc y una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad, en serie den tándem, y traducirse a un polinucleótido continuo que codifica para ambas proteínas mediante las maquinarias moleculares necesarias, por ejemplo, ADN polimerasa y ribosomas, en la célula huésped.

En el caso de que un conector sea un polímero sintético, por ejemplo, un polímero de PEG, el polímero se puede funcionalizar con grupos funcionales químicos reactivos en cada extremo para reaccionar con los aminoácidos terminales en los extremos de conexión de las proteínas.

En el caso de que un conector (excepto el enlace peptídico que se mencionó previamente) esté elaborado a partir de una reacción química, los grupos funcionales químicos, por ejemplo, grupos amina, ácido carboxílico, éster, azida, u otro grupo funcional comúnmente usado en el arte, se pueden unir en forma sintética al extremo C-terminal de una proteína y al extremo N-terminal de otra proteína, respectivamente. Los dos grupos funcionales pueden reaccionar luego a través de medios de química sintética para formar un enlace

químico, conectando así las dos proteínas juntas. Dichos procedimientos de conjugación química son de rutina para las personas con experiencia en el arte.

Espaciador

En la invención presente, un conector entre un dominio Fc monómero y un dominio D1 de SIRP- α o variante del mismo en una construcción de SIRP- α de la invención, puede ser un espaciador de aminoácidos que incluye entre 1 y 200 aminoácidos. En el arte se conocen espaciadores peptídicos adecuados e incluyen, por ejemplo, conectores peptídicos que contienen residuos aminoacídicos flexibles, tales como glicina y serina. En determinadas formas de realización, un espaciador puede contener motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetitivos, de GS, GG, GGS, GGG, GGGGS (SEQ ID NO: 39), GGSG (SEQ ID NO: 40), o SGGG (SEQ ID NO: 41). En ciertas formas de realización, un espaciador puede contener entre 2 y 12 aminoácidos que incluyen motivos de GS, por ejemplo, GS, GSGS (SEQ ID NO: 42), GSGSGS (SEQ ID NO: 43), GSGSGSGS (SEQ ID NO: 44), GSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 45), o GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 46). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener entre 3 y 12 aminoácidos que incluyen motivos de GGS, por ejemplo, GGS, GGSGGS (SEQ ID NO: 47), GGSGGSGGS (SEQ ID NO: 48), y GGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 49). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener entre 4 y 12 aminoácidos que incluyen motivos de GGSG (SEQ ID NO: 40), por ejemplo, GGSG (SEQ ID NO: 40), GGSGGGSG (SEQ ID NO: 50), o GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 51). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener motivos of GGGGS (SEQ ID NO: 39), por ejemplo, GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 52). En algunas formas de realización,

un espaciador también puede contener aminoácidos diferentes de glicina y serina, por ejemplo, MS (SEQ ID NO: 53), AAAL (SEQ ID NO: 54), AAAK (SEQ ID NO: 55), AAAR (SEQ ID NO: 56), EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO: 57), GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO: 58), AEAAAKEAAKA (SEQ ID NO: 59), KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 60), GGGGAGGGG (SEQ ID NO: 61), GENLYFQSGG (SEQ ID NO: 62), SACYCELS (SEQ ID NO: 63), RSIAT (SEQ ID NO: 64), RPACKIPNDLKQKVMNH (SEQ ID NO: 65), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID NO: 66), AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO: 67), o GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS (SEQ ID NO: 68). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetidos, de EAAAK (SEQ ID NO: 69). En algunas formas de realización, un espaciador puede contener motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetidos, de secuencias ricas en prolina tal como (XP)_n, donde X puede ser cualquier aminoácido (por ejemplo, A, K, o E) y n está entre 1-5, y PAPAP (SEQ ID NO: 70).

Es posible ajustar la longitud del espaciador peptídico y de los aminoácidos usados de acuerdo con las dos proteínas involucradas y el grado de flexibilidad deseado en el polipéptido de fusión de proteínas final. La longitud del espaciador se puede ajustar a fin de asegurar un plegado adecuado de la proteína y evitar la formación de agregados. En algunas formas de realización de la invención, un espaciador, es decir, un espaciador entre una HSA y un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención, puede ser A o AAAL (SEQ ID NO: 54).

IV. Vectores, células huésped y producción de proteínas

Tanto los polipéptidos como los anticuerpos de las composiciones de la invención pueden producirse a partir de una célula huésped. Una célula huésped se refiere a un vehículo que incluye los componentes celulares necesarios, por ejemplo, organelas, requeridas para expresar los polipéptidos y polipéptidos de fusión descritas en la presente a partir de sus correspondientes ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos pueden incluirse en vectores de ácido nucleicos que pueden introducirse en la célula huésped por técnicas convencionales conocidas en el arte (por ejemplo, transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato de calcio, microinyección directa, infección, etc.). La selección de los vectores de ácidos nucleicos depende en parte de las células huéspedes a usar. Generalmente, las células huéspedes preferidas son de origen procariótico (por ejemplo, bacteriano) o eucariótico (por ejemplo, mamífero).

Construcción de vector de ácido nucleico y células huéspedes

Una secuencia de ácido nucleico que codifica para la secuencia de aminoácidos de un polipéptido puede prepararse por una variedad de métodos conocidos en el arte. Estos métodos incluyen, a título enunciativo no taxativo, mutagénesis mediada por oligonucleótido (o dirigida a sitio) y mutagénesis por PCR. Una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido puede obtenerse usando técnicas estándares, por ejemplo, síntesis de genes. Como alternativa, una molécula de ácido nucleico que codifica para un dominio D1 de SIRP- α de tipo salvaje puede mutarse para que incluya sustituciones de ácido nucleico específicas usando técnicas estándares en el arte, por ejemplo, mutagénesis QuikChangeTM. Las moléculas de ácido nucleico pueden sintetizarse usando un sintetizador de nucleótidos o técnicas de PCR.

Una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido puede insertarse en un vector con capacidad de replicarse y expresar las moléculas de ácido nucleico en células huéspedes procariotas y eucariotas. Muchos de los vectores se encuentran disponibles en el arte y pueden usarse para los propósitos de la invención. Cada vector puede incluir diferentes componentes que pueden ajustarse y optimizarse para compatibilidad con la célula huésped particular. Por ejemplo, los componentes del vector pueden incluir, a título enunciativo no taxativo, un origen de replicación, un gen marcador de selección, un promotor, un sitio de unión a ribosoma, una secuencia señal, una secuencia de ácido nucleico que codifica una proteína de interés, y una secuencia de terminación de la transcripción.

En algunas formas de realización de la invención, se usan como huéspedes las células de mamíferos. Los ejemplos de células de mamíferos son, no taxativamente, riñón embrionario humano (HEK) (por ejemplo, HEK293, HEK 293F), ovario de hamster chino (CHO), HeLa, COS, PC3, Vero, MC3T3, NS0, Sp2/0, VERY, BHK, MDCK, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20, T47D, NS0 (línea celular de mieloma murino no produce de manera endógena ninguna cadena de inmunoglobulina), CRL7030, y células HsS78Bst. En algunas formas de realización, las células *E. coli* se usan como células huéspedes para la invención. Los ejemplos de cepas de *E. coli* incluyen, a título enunciativo no taxativo, *E. coli* 294 (ATCC® 31, 446), *E. coli* λ 1776 (ATCC® 31, 537), *E. coli* BL21 (DE3) (ATCC® BAA-1025) y *E. coli* RV308 (ATCC® 31, 608). Las diferentes células huéspedes tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento y modificación postraduccional de los productos proteicos (por ejemplo, glicosilación). Las líneas de células apropiadas o sistemas huéspedes pueden seleccionarse para asegurarse la

modificación correcta y procesamiento del polipéptido expresado. Los vectores de expresión descritos precedentemente pueden introducirse en células huéspedes apropiadas usando técnicas convencionales en el arte, por ejemplo, transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato de calcio y microinyección directa. Una vez que se introducen los vectores en las células huéspedes para la producción de proteína, las células huéspedes se cultivan en medios nutrientes convencionales modificados de manera apropiada para inducir los promotores, seleccionar transformantes, o amplificar los genes que codifican para las secuencias deseadas. Los métodos de expresión de proteínas terapéuticas son conocidos en el arte, véase por ejemplo, Paulina Balbas, Argelia Lorence (eds.) *Recombinant Gene Expression: Reviews y Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press; 2nd ed. 2004 y Vladimir Voynov y Justin A. Caravella (eds.) *Therapeutic Proteins: Methods y Protocols (Methods in Molecular Biology)* Humana Press; 2nd ed. 2012.

Producción, recuperación y purificación de la proteína

Las células huéspedes usadas para producir las construcciones de la invención pueden hacerse crecer en medios conocidos en el arte y adecuados para cultivar las células huéspedes seleccionadas. Los ejemplos de medios adecuados para las células huéspedes de mamífero incluyen medio esencial mínimo (MEM), medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), Medio de Expresión Expi293™, DMEM con suplemento de suero bovino fetal (FBS) y RPMI-1640. Los ejemplos de medios apropiados para células huéspedes bacterianas incluyen caldo de Luria broth (LB) más los suplementos necesarios, tal como un agente de selección, por ejemplo, ampicilina. Las células huéspedes se cultivan a temperaturas adecuadas, tal como entre

aproximadamente 20 °C y aproximadamente 39 °C, por ejemplo, entre 25 °C y aproximadamente 37 °C, preferiblemente 37 °C, y niveles de CO₂, tal como entre 5% y 10% (preferiblemente 8%). El pH del medio generalmente es entre aproximadamente 6, 8 y 7, 4, por ejemplo, 7, 0, dependiendo principalmente del organismo huésped. Si se usa un promotor inducible en el vector de expresión de la invención, la expresión de proteína se induce en condiciones adecuadas para la activación del promotor.

La recuperación de la proteína típicamente involucra romper la célula huésped, generalmente usando medios tales como shock osmótico, sonication, o lisis. Una vez que las células se rompen, los restos celulares pueden quitarse por centrifugación o filtración. Las proteínas pueden purificarse adicionalmente. Un polipéptido de la invención se puede purificar mediante cualquier método conocido en el arte de la purificación de proteínas, por ejemplo, por cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, de afinidad, y de columna por exclusión de tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial, o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Por ejemplo, la proteína se puede aislar y purificar por selección y combinación apropiada de columnas de afinidad tales como columna de Proteína A (por ejemplo, cromatografía POROS Proteína A) con columnas cromatográficas (por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico POROS HS-50), filtración, ultra filtración, separación por sales y procedimientos de diálisis. En algunos casos, un polipéptido se puede conjugar a secuencias marcadoras, tales como un péptido para facilitar su purificación. Un ejemplo de una secuencia de aminoácidos marcadora es un péptido de hexa-histidina (rótulo His), que se une a una columna de afinidad de agarosa funcionalizada con níquel con afinidad micromolar. Otros rótulos peptídicos útiles para purificación

incluyen a, a título enunciativo no taxativo, el rótulo de hemaglutinina “HA”, que corresponde a un epítopo derivado de la proteína hemaglutinina de influenza (Wilson y col., Cell37:767,1984).

Como alternativa, una construcción de la invención puede ser producida por las células de un sujeto (por ejemplo, un humano), por ejemplo, en el contexto de terapia génica, por administración de un vector (tal como un vector viral (por ejemplo, un vector retroviral, vector adenoviral, vector de poxvirus (por ejemplo, vector de virus vacuna, tal como Vaccinia Ankara modificado (MVA)), vector viral adenoasociado y vector alfaviral)) que contiene moléculas de ácido nucleico que codifican los polipéptidos en la construcción. El vector, una vez dentro de una célula del sujeto (por ejemplo, por transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato de calcio, microinyección directa, infección, etc.) promoverá la expresión los polipéptidos en la construcción, que luego es secretada fuera de la célula. Si lo que se busca es el tratamiento de una enfermedad o afección, no se requiere ninguna acción adicional. Si se desea recolectar la proteína, se puede obtener sangre del sujeto y purificar las proteínas de la sangre mediante los métodos conocidos en el arte.

IX. Composiciones y preparaciones farmacéuticas

La invención comprende composiciones farmacéuticas que incluyen las construcciones divulgadas en la presente. En algunas formas de realización, una composición farmacéutica de la invención incluye un polipéptido que incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad y un anticuerpo. En algunas formas de realización, en una terapia se puede usar una composición farmacéutica de la invención en combinación con otros agentes (por ejemplo, productos biológicos terapéuticos y/o pequeñas moléculas) o composiciones. Además de una cantidad terapéutica de la composición, la composición

farmacéutica puede incluir uno o más transportadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, que pueden formularse mediante métodos conocidos para aquellos con experiencia en el arte. En algunas formas de realización, una composición farmacéutica de la invención incluye pueden contener moléculas de ácido nucleico (ADN o ARN, por ejemplo, ARNm) que codifican la construcción de la invención, o un vector que contiene dichas moléculas de ácidos nucleicos.

Los transportadores y excipientes aceptables en las composiciones farmacéuticas no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas. Los transportadores y excipientes aceptables pueden incluir soluciones amortiguadoras tales como fosfato, citrato, HEPES y TAE, antioxidantes tales como ácido ascórbico y metionina, conservantes tales como cloruro de hexametonio, cloruro de octadecildimetilbencilamonio, resorcinol y cloruro de benzalconio, proteínas tales como albúmina sérica humana, gelatina, dextrano e inmunoglobulinas, polímeros hidrofílicos tales como polivinilpirrolidona, aminoácidos tales como glicina, glutamina, histidina y lisina e hidratos de carbono tales como glucosa, manosa, sacarosa y sorbitol. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse de manera parenteral en la forma de una formulación inyectable. Las composiciones farmacéuticas para inyectar pueden formularse usando una solución estéril o cualquier líquido farmacéuticamente aceptable como vehículo. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, a título enunciativo no taxativo, agua estéril, solución fisiológica y medio de cultivo celular (por ejemplo, medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), medio Eagles α -modificado (α -MEM), medio F-12). Los métodos de formulación son conocidos en el arte, véase, por ejemplo, Banga (ed.) *Therapeutic Peptides and Proteins*:

Formulation, Processing and Delivery Systems (2nd ed.) Taylor & Francis Group, CRC Press (2006).

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse en microcápsulas, tal como microcápsulas de hidroximetilcelulosa o de gelatina y microcápsula de poli-(metilmetacrilato). Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden prepararse en otros sistemas de administración de fármacos tales como liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas. Las mencionadas técnicas se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy 22^{ta} edición (2012). Las composiciones farmacéuticas a usar para la administración in vivo deben ser estériles. Esto se logra fácilmente por filtración a través de membranas de filtración estéril.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden prepararse como una formulación de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen las composiciones de la invención. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles, polilactidas, copolímeros de ácido L-glutámico y γ etil-L-glutamato, acetato de etileno-vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tales como LUPRON DEPOTTM y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Algunas de las formulaciones de liberación sostenida permiten la liberación de moléculas durante unos pocos meses, por ejemplo, entre uno y seis meses, mientras que otras formulaciones liberan composiciones farmacéuticas de la invención durante periodos de tiempo más cortos, por ejemplo, días a semanas.

La composición farmacéutica puede prepararse en una dosis individual

según se requiera. Las cantidades de componente activo, por ejemplo, la construcción de la invención, incluidas en las preparaciones farmacéuticas son tal que se provee una dosis adecuada en el rango designado (por ejemplo, una dosis en el rango entre 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal).

La composición farmacéutica para terapia genética puede estar en un diluyente aceptable, o puede incluir una matriz de liberación lenta en la cual está embebido el vehículo de administración genética. Los vectores que pueden usarse como vehículo para administración genética in vivo incluyen, a título enunciativo no taxativo, vectores retrovirales, vectores adenovirales, vectores poxvirales (por ejemplo, vectores de virus vacuna, tal como Vaccinia Ankara modificado), vectores virales adenoasociados y vectores alfavirales.

X. Rutas, dosificaciones y tiempos de administración

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para, por ejemplo, la administración intravenosa, la administración parenteral, administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intratecal, o administración intraperitoneal. La composición farmacéutica también puede formularse para, o administrarse vía, administración bucal, nasal, en aspersion, en aerosol, rectal, o vaginal. Para las formulaciones inyectables, se conocen diferentes transportadores farmacéuticos eficaces en el arte. Véase, por ejemplo, *Pharmaceutics y Pharmacy Practice*, J. B. Lippincott Company, Philadelphia, Pa., Banker y Chalmers, eds., páginas 238-250 (1982) y *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4ta ed., páginas 622-630 (1986).

En algunas formas de realización, es posible administrar una composición farmacéutica que incluye moléculas de ácido nucleico o un vector que contiene tales moléculas de ácido nucleico por medio de administración

génica. Los métodos de administración de genes son bien conocidos en el arte. Los vectores que se pueden usar para la administración y expresión de genes in vivo incluyen no taxativamente vectores retrovirales, vectores adenovirales, vectores poxvirales (por ejemplo, vectores de vaccinia viral tales como Modified Vaccinia Ankara (MVA)), vectores virales adeno-asociados y vectores alfavirales.

La dosificación de las composiciones farmacéuticas de la invención depende de factores que incluyen la ruta de administración, la enfermedad a tratar y características físicas, por ejemplo, edad, peso, salud general, del sujeto. Típicamente, la cantidad de la composición farmacéutica contenida en una dosis individual puede ser una cantidad que eficazmente previene, demora o trata la enfermedad sin inducir toxicidad significativa. Una composición farmacéutica de la invención puede incluir una dosificación de una construcción que varía en un rango entre 0, 01 y 500 mg/kg (por ejemplo, 0, 01, 0, 1, 0, 2, 0, 3, 0, 4, 0, 5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, o 500 mg/kg) y, en una forma de realización más específica, entre aproximadamente 0, 1 y aproximadamente 30 mg/kg y, en una forma de realización más específica, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 30 mg/kg. La dosificación puede ser adaptada por el médico de acuerdo con factores convenientes tales como la extensión de la enfermedad y diferentes parámetros del sujeto.

Las composiciones farmacéuticas se administran de manera compatible con la formulación dosificada y en cantidad tal que sea terapéuticamente eficaz y resulte en una mejora o remediación de los síntomas. Las composiciones farmacéuticas se administran en una variedad de formas de dosificación, por ejemplo, formas de dosificación intravenosa, formas de dosificación

subcutánea, y formas de dosificación oral (por ejemplo, soluciones ingeribles, cápsulas de liberación de fármacos). En general, las proteínas terapéuticas se dosifican a 0, 1-100 mg/kg, por ejemplo, 1-50 mg/kg. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un sujeto que lo requiere, por ejemplo, una o más veces (por ejemplo, entre 1 y 10 veces o más) diariamente, semanalmente, mensualmente, semestralmente, anualmente, o según sea necesario médicamente. Las dosificaciones pueden proveerse en un régimen de dosificación individual o múltiple. El tiempo entre las administraciones puede disminuir según si la condición médica mejora o aumenta a medida que la salud del paciente decae.

XI. Métodos de tratamiento

La invención provee composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento que pueden usarse para tratar pacientes que están padeciendo enfermedades y trastornos, tales como cánceres y enfermedades inmunológicas. Los métodos de la invención incluyen administrar al sujeto que presenta una enfermedad (por ejemplo, cáncer) (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y (ii) un anticuerpo. En algunas formas de realización, el polipéptido y el anticuerpo se administran de manera sustancialmente simultánea (es decir, a una semana, 6, 5, 4, 3, 2, 1 días, 12, 6, 3, 2, 1 horas uno del otro, o de manera sustancialmente simultánea, seguido por la administración del anticuerpo solo. En algunas formas de realización, el anticuerpo se administra en primer lugar, seguido por la administración del polipéptido y el anticuerpo de forma sustancialmente simultánea (es decir, dentro de una semana, 6, 5, 4, 3, 2, 1 días, 12, 6, 3, 2, 1 horas uno del otro o de manera sustancialmente simultánea).

En algunas formas de realización, los métodos de la invención aumentan la fagocitosis de una célula blanco (por ejemplo, una célula cancerígena) en el sujeto. En algunas formas de realización, los métodos de la invención eliminan células T regulatorias en el sujeto. En algunas formas de realización, los métodos de la invención matan las células cancerígenas en el sujeto. Los métodos de la invención se pueden administrar a un sujeto que tiene cáncer, tal como tumores sólidos, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer cervical, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon rectal y, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula biliar, tumor del cáncer del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, y cáncer del cuello, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel no melanoma, carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de riñón, cáncer de células renales, cáncer de pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor cerebral, y carcinoma. En algunas formas de realización, el sujeto presenta un cáncer de tumor sólido o un cáncer hematológico.

Los métodos de la invención pueden administrarse a un sujeto que tiene una enfermedad inmunológica. En algunas formas de realización, la enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria, como la esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpo, enfermedad de injerto contra huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis

sistémica progresiva, esclerodermia, síndrome coronario agudo, reperfusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis, o miositis autoinmune inflamatoria.

En algunas formas de realización, los métodos de la invención incluyen alterar una respuesta inmune en un sujeto. Los métodos incluyen administrar al sujeto un polipéptido que incluye una variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo, alterando de ese modo la respuesta inmunológica en el sujeto. En algunas formas de realización, alterar la respuesta inmunológica incluye eliminar la respuesta inmunológica.

En algunas formas de realización, antes de tratar una enfermedad (por ejemplo, cáncer) en un sujeto, se determinan la o las secuencias de aminoácidos de SIRP- α en el sujeto. En este método de la invención, el médico determina las secuencias de aminoácidos de un polipéptido SIRP- α en el sujeto en una muestra biológica del sujeto y luego administra al sujeto un polipéptido que incluye una variante D1 de SIRP- α y un anticuerpo. En este método, la variante D1 de SIRP- α en el polipéptido tiene la misma secuencia de aminoácidos que un polipéptido SIRP- α de la muestra biológica del sujeto, excepto por los cambios introducidos en los aminoácidos para aumentar la afinidad del polipéptido. La variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad del polipéptido tiene una inmunogenicidad mínima en el sujeto luego de su administración.

XII. Conjuntos de elementos (Kits)

La invención proporciona también conjuntos de elementos (kits) que incluyen (i) un polipéptido que incluye una D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad; (ii) un anticuerpo; y (iii) instrucciones para

administrar (i) y (ii) a un sujeto que presenta una enfermedad. Los Kits también pueden incluir (i) un polipéptido que incluye variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad; y (ii) instrucciones para administrar (i) con un anticuerpo a un sujeto que tiene una enfermedad. Los kits también pueden incluir (i) un anticuerpo; y (ii) instrucciones para administrar (i) con un polipéptido que una variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad a un sujeto que presenta una enfermedad.

Los conjuntos de elementos (kits) se pueden usar para un sujeto que presenta cáncer, cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de los bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula, cáncer con tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuellos, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel (no melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de la pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor de cerebro y carcinoma. En algunas formas de realización, el cáncer es un cáncer de tumor sólido, o un cáncer hematológico.

Los conjuntos de elementos (kits) pueden utilizarse para un sujeto que presenta enfermedades inmunológicas. En algunas formas de realización, la enfermedad autoinmune o inflamatoria es esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una

enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpos, enfermedad de injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma, síndrome coronario agudo, reperfusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis o miositis autoinmune inflamatoria.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 – Generación de polipéptidos en las composiciones de la invención

Es posible generar un polipéptido que incluye una variante D1 de la SIRP- α de alta afinidad en una composición de la invención usando técnicas de clonación molecular y expresión de proteínas convencionales. Una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de la invención se puede clonar en un vector optimizado para la expresión en células bacterianas o de mamífero usando técnicas bien conocidas de biología molecular. Si se utilizan las células bacterianas, el vector se puede transformar entonces en células de bacterias (por ejemplo, células de *E. coli*), que se pueden crecer hasta densidad óptima antes de la inducción de la expresión proteica. Después de la inducción de la expresión proteica (es decir, usando IPTG), se pueden dejar creciendo las células bacterianas durante otras 24 horas. Se pueden recolectar las células y los polipéptidos expresados se pueden purificar a partir del sobrenadante de cultivo celular usando, por ejemplo, cromatografía de afinidad en columna. Los polipéptidos purificados se pueden analizar por SDS-PAGE seguido por tinción con azul de Coomassie para confirmar la presencia de las bandas proteicas de tamaño esperado.

Los polipéptidos purificados se pueden cribar a fin de estudiar su unión a CD47 usando técnicas disponibles en el arte, tales como exposición en fagos, exposición en levaduras, resonancia de plasmón superficial, ensayos de proximidad por centelleo, ELISA, inmunoensayo ORIGEN (IGEN), extinción de fluorescencia, y/o transferencia de fluorescencia. También se puede cribar la unión usando un bioensayo adecuado. Los polipéptidos deseados se unen a CD47 con afinidad mayor que un SIRP- α tipo salvaje.

Ejemplo 2 – Ensayo de polipéptidos con alta afinidad de unión a CD47 en ratones

Se pueden usar modelos de diversos cánceres de ratones genéticamente modificados, por ejemplo, de tumores sólidos y cánceres hematológicos, para ensayar la unión de las variantes D1 de SIRP- α a CD47. Se puede inyectar un polipéptido a un ratón, que se puede diseccionar en un momento posterior para detectar la presencia del complejo del polipéptido y CD47. En la detección se pueden usar anticuerpos específicos contra SIRP- α o CD47.

Ejemplo 3 – Ensayo de polipéptidos para inmunogenicidad

Se ensayan polipéptidos que incluyen una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad en ensayos de inmunogenicidad.

Los polipéptidos se pueden ensayar tanto *in silico* (véase, por ejemplo, King y col., Proc Natl Acad Sci USA. 111:8577- 82,2014) como *in vitro* en ensayos de proliferación de células T, algunos de los cuales están comercialmente disponibles. Los polipéptidos que provocan una reacción de inmunogenicidad mínima en un ensayo de proliferación de células T *in vitro* que muestran una mayor afinidad de unión a CD47 que la SIRP- α de tipo salvaje se seleccionan entonces para un desarrollo adicional.

Ejemplo 4 –Ensayo de polipéptidos para afinidad optimizada

Puede ser deseable desarrollar una variante con una menor afinidad de unión a CD47 que la que es máximamente posible de conseguir. Para ello, se inyectan diferentes polipéptidos que incluyen diferentes variantes D1 de SIRP- α de alta afinidad que muestran grados diversos de afinidades de unión incrementadas a CD47, en comparación con la SIRP- α de tipo salvaje, en un modelo animal de cáncer (por ejemplo, un modelo de cáncer en ratón) para ensayar el efecto de las diferentes afinidades de unión sobre la toxicidad en el organismo. El experimento se puede hacer en primates con variantes D1 humanizadas de SIRP- α de alta afinidad, debido a que estas reaccionan en forma cruzada sustancialmente más con CD47 de primate no humano (NHP) que con CD47 de ratón.

Otras formas de realización

Si bien esta invención se ha descrito en relación a formas de realización específicas, se comprenderá que es posible realizar otras modificaciones y la presente cubre cualquier variante, uso o adaptación de la invención que siga, en general, los principios de la invención dentro de las prácticas conocidas o habituales en la técnica a la cual pertenece la invención y que pueda aplicarse a las características esenciales que se establecen en la presente,

Todas las publicaciones, patentes, y solicitudes de patente se incorporan en su totalidad a la presente a modo de referencia como si se hubiera indicado individualmente para cada publicación, patente o solicitud de patente que se incorpora en su totalidad a la presente a modo de referencia.

Otras formas de realización están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones:

Reivindicaciones

1. Un método para tratar una enfermedad asociada con la actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, dicho método que comprende administrar a dicho sujeto (i) un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y (ii) un anticuerpo.
2. Un método para aumentar la fagocitosis de una célula diana en un sujeto, dicho método que comprende administrar a dicho sujeto (i) un polipéptido que comprende variante SIRP- α D1 y (ii) un anticuerpo.
3. El método de la reivindicación 2, en donde dicha célula diana es una célula de cáncer.
4. Un método para eliminar las células T reguladoras en un sujeto, dicho método que comprende administrar a dicho sujeto (i) un polipéptido que comprende variante SIRP- α D1 y (ii) un anticuerpo.
5. Un método para matar una célula de cáncer en un sujeto, dicho método que comprende administrar a dicho sujeto (i) un polipéptido que comprende variante SIRP- α D1 y (ii) un anticuerpo.
6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 -5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃A
DAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ
ID NO: 11),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G,

H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G,
H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V;
y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de
aminoácido relacionada con un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje
que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 1.

7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha
variante SIRP-α D1 tiene una secuencia de
EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY
YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 14),
en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅
es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H,
P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G,
H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G,
H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o
V; y X₁₆ es F o V;

8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha
variante SIRP-α D1 tiene una secuencia de
EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILLCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY
YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 15),
en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅
es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H,
P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X_n es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H,

I, K, L,

M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q,

R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 5.

- 9.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP-α D1 tiene una secuencia de EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 16), en donde X, es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X_n es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 6.

- 10.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP-α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDDVEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 19),

en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP-α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 9.

11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-10, en donde X₁ es L.
12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-10, en donde X₁ es I.
13. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-10, en donde es V.
14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-13, en donde X₂ es V.
15. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-13, en donde X₂ es L.
16. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-13, en donde X₂ es I.
17. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-16, en donde X₃ es A.
18. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-16, en donde X₃ es V.
19. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-18, en donde X₄ es A.
20. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-18, en donde X₄ es I.
21. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-18, en donde X₄ es L.
22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-21, en donde X₅ es I.
23. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-21, en donde X₅ es T.
24. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-21, en donde X₅ es S.
25. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-21, en donde X₅ es F.

26. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-25, en donde X_e es E.
27. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-25, en donde X_6 es V.
28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-25, en donde X_6 es L.
29. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-28, en donde X_7 es K.
30. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-28, en donde X_7 es R.
31. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-30, en donde X_8 es E.
32. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-30, en donde X_8 es Q.
33. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-32, en donde X_9 es H.
34. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-32, en donde X_9 es P.
35. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-32, en donde X_9 es R.
36. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-35, en donde X_{10} es L.
37. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-35, en donde X_{10} es T.
38. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-35, en donde X_{10} es G.
39. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-38, en donde X_n es K.
40. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-38, en donde X_n es R.
41. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es N.
42. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es A.
43. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es C.
44. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es D.
45. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es E.
46. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es F.
47. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{i2} es G.
48. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es H.
49. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es I.

50. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es K.
51. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es L.
52. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es M.
53. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es P.
54. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es Q.
55. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es R.
56. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es S.
57. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es T.
58. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es V.
59. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es W.
60. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-40, en donde X_{12} es Y.
61. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es P.
62. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es A.
63. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es C.
64. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es D.
65. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es E.
66. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es F.
67. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es G.
68. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es H.
69. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es I.
70. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es K.

71. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es L.
72. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es M.
73. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es N.
74. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es Q.
75. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es R.
76. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es S.
77. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es T.
78. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es V.
79. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es W.
80. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-60, en donde X_{13} es Y.
81. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-80, en donde X_{14} es V.
82. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-80, en donde X_{14} es I.
83. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-82, en donde X_{15} es F.
84. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-82, en donde X_{15} es L.
85. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-82, en donde X_{15} es V.
86. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-85, en donde X_{16} es F.
87. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-85, en donde X_{16} es V.
88. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-87, en donde dicho polipéptido comprende no más de diez la sustitución de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.
89. El método de la reivindicación 88, en donde dicho polipéptido comprende

no más de siete la sustitución de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.

90. El método de cualquiera de las reivindicaciones 6-89, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 10 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1, 4-6, y 9.
91. El método de la reivindicación 90, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1,4-6, y 9.
92. El método de la reivindicación 91, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1,4-6, y 9.
93. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVR AKPS (SEQ ID NO: 12), en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V;

y X_{16} es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 2.

- 94.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃A
DAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ
ID NO: 13),

en donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o, I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V, o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es L, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V.

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 3.

- 95.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPAR
X₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX
₁₀TX_nRENMDFSISISX₁₂rrX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAG
TELSVRGKPS (SEQ ID NO: 17),

en donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o, I; X_3 es A o V; X_4 es V, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V, o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es S, T, o G; X_n es K o R; X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 7.

- 96.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSEX₁₀TX₁₁iRENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTY YCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 20),

en donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o, I; X_3 es A o V; X_4 es V, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V, o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es S, T, o G; X_n es K o R; X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L,

M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 10.

- 97.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-96, en donde X^A es L.

- 98.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-96, en donde es I.
- 99.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-96, en donde X, es V.
- 100.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-99, en donde X_2 es V.
- 101.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-99, en donde X_2 es L.
- 102.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-99, en donde X_2 es I.
- 103.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-102, en donde X_3 es A.
- 104.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-102, en donde X_3 es V.
- 105.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-104, en donde X_4 es V.
- 106.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-104, en donde X_4 es I.
- 107.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-104, en donde X_4 es L.
- 108.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-107, en donde X_5 es I.
- 109.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-107, en donde X_5 es T.
- 110.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-107, en donde X_5 es S.
- 111.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-107, en donde X_5 es F.
- 112.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-111, en donde X_6 es

E.

- 113.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-111, en donde X_6 es V.
- 114.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-111, en donde X_6 es L.
- 115.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-114, en donde X_7 es K.
- 116.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-114, en donde X_7 es R.
- 117.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-116, en donde X_8 es E.
- 118.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-116, en donde X_8 es Q.
- 119.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-118, en donde X_9 es H.
- 120.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-118, en donde X_9 es P.
- 121.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-118, en donde X_9 es R.
- 122.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-121, en donde X_{10} es S.
- 123.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-121, en donde X_{10} es T.
- 124.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-121, en donde X_{10} es G.

- 125.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-124, en donde X_n es K.
- 126.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-124, en donde X_n es R.
- 127.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es N.
- 128.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es A.
- 129.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es C.
- 130.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es D.
- 131.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es E.
- 132.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es F.
- 133.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es G.
- 134.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es H.
- 135.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es I.
- 136.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es K.
- 137.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{i2} es

L.

- 138.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es M.
- 139.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es P.
- 140.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es Q.
- 141.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es R.
- 142.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es S.
- 143.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es T.
- 144.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es V.
- 145.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es W.
- 146.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-126, en donde X_{12} es Y.
- 147.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es P.
- 148.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es A.
- 149.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es C.

- 150.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es D.
- 151.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{i3} es E.
- 152.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{i3} es F.
- 153.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es G.
- 154.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es H.
- 155.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es I.
- 156.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es K.
- 157.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es L.
- 158.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es M.
- 159.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es N.
- 160.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es Q.
- 161.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es R.
- 162.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es

S.

- 163.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es T.
- 164.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es V.
- 165.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es W.
- 166.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-146, en donde X_{13} es Y.
- 167.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-166, en donde X_{14} es V.
- 168.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-166, en donde X_{14} es I.
- 169.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-168, en donde X_{15} es F.
- 170.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-168, en donde X_{15} es L.
- 171.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-168, en donde X_{15} es V.
- 172.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-171, en donde X_{16} es F.
- 173.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-171, en donde X_{16} es V.
- 174.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-173, en donde dicho polipéptido comprende no más de diez la sustitución de aminoácidos

respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.

- 175.** El método de la reivindicación 174, en donde dicho polipéptido comprende no más de siete la sustitución de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.
- 176.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 93-175, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 10 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.
- 177.** El método de la reivindicación 176, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.
- 178,** El método de la reivindicación 177, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 2, 3, 7, y 10.
- 179,** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de EEEX₁QX₂IQPKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFPIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 18), en donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o, I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H,

P, o R; X_{10} es L, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

- 180.** El método de la reivindicación 179, en donde X, es L.
- 181.** El método de la reivindicación 179, en donde X, es I.
- 182.** El método de la reivindicación 179, en donde X, es V.
- 183.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-182, en donde X_2 es V.
- 184.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-182, en donde X_2 es L.
- 185.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-182, en donde X_2 es I.
- 186.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-185, en donde X_3 es A.
- 187.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-185, en donde X_3 es V.
- 188.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-187, en donde X_4 es A.
- 189.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-187, en donde X_4 es I.
- 190.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-187, en donde X_4 es

L.

- 191.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-190, en donde X_5 es I.
- 192.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-190, en donde X_5 es T.
- 193.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-190, en donde X_5 es S.
- 194.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-190, en donde X_5 es F.
- 195.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-194, en donde X_6 es E.
- 196.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-194, en donde X_6 es V.
- 197.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-194, en donde X_6 es L.
- 198.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-197, en donde X_7 es K.
- 199.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-197, en donde X_7 es R.
- 200.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-199, en donde X_8 es E.
- 201.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-199, en donde X_8 es Q.
- 202.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-201, en donde X_9 es H.

- 203.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-201, en donde X_9 es P.
- 204.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-201, en donde X_9 es R.
- 205.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-204, en donde X_{10} es S.
- 206.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-204, en donde X_{10} es T.
- 207.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-204, en donde X_{10} es G.
- 208.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-207, en donde X_n es K.
- 209.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-207, en donde X_n es R.
- 210.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es N.
- 211.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es A.
- 212.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es C.
- 213.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es D.
- 214.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es E.
- 215.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12}

es F.

- 216.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es G.
- 217.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es H.
- 218.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es I.
- 219.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es K.
- 220.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es L.
- 221.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es M.
- 222.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es P.
- 223.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es Q.
- 224.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es R.
- 225.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es S.
- 226.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es T.
- 227.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es V.

- 228.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es W.
- 229.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-209, en donde X_{12} es Y.
- 230.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es P.
- 231.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es A.
- 232.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es C.
- 233.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es D.
- 234.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{i3} es E.
- 235.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{i3} es F.
- 236.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es G.
- 237.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es H.
- 238.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es I.
- 239.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es K.
- 240.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13}

es L.

- 241.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es M.
- 242.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es N.
- 243.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es Q.
- 244.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es R.
- 245.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es S.
- 246.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es T.
- 247.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es V.
- 248.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{13} es W.
- 249.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-229, en donde X_{i3} es Y.
- 250.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-249, en donde X_{14} es V.
- 251.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-249, en donde X_{14} es I.
- 252.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-251, en donde X_{15} es F.

- 253.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-251, en donde X_{15} es L.
- 254.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-251, en donde X_{15} es V.
- 255.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-254, en donde X_{16} es F.
- 256.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-254, en donde X_{16} es V.
- 257.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-256, en donde dicho polipéptido comprende no más de diez la sustitución de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
- 258.** El método de la reivindicación 257, en donde dicho polipéptido comprende no más de siete sustituciones de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
- 259.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 179-258, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos 10 veces más de afinidad de unión que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
- 260.** El método de la reivindicación 259, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.
- 261.** El método de la reivindicación 260, en donde dicho polipéptido une

CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

- 262.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde dicha variante SIRP- α D1 tiene una secuencia de

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPG
RX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRISX₁₂ITX₁₃A
DAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ
ID NO: 21)

en donde X₁ es E o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o, I; X₄ es S o F; X₅ es L o S; X₆ es S o T; X₇ es A o V; X₈ es I o T; X₉ es H o R; X₁₀ es A, V, I, o L; X_n es I, T, S, o F; X₁₂ es A o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K o R; X₁₅ es E o Q; X₁₆ es H, P, o R; X₁₇ es D o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K o R; X₂₀ es E o N; X₂₁ es S o P; X₂₂ es S o R; X₂₃ es S o G; X₂₄ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₂₅ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₂₆ es V o I; X₂₇ es F, L, V; X₂₈ es D o ausente; X₂₉ es T o V; X₃₀ es F o V; y X₃₁ es A o G; y

en donde dicha variante tiene por lo menos una sustitución de aminoácidos respecto a un dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOS: 1-10.

- 263.** El método de la reivindicación 262, en donde X₁ es E.
- 264.** El método de la reivindicación 262, en donde X₁ es G.
- 265.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-264, en donde X₂ es L.

- 266.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-264, en donde X_2 es I.
- 267.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-264, en donde X_2 es V.
- 268.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-267, en donde X_3 es V.
- 269.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-267, en donde X_3 es L.
- 270.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-267, en donde X_3 es I.
- 271.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-270, en donde X_4 es S.
- 272.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-270, en donde X_4 es F.
- 273.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-272, en donde X_5 es L.
- 274.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-272, en donde X_5 es S.
- 275.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-274, en donde X_6 es S.
- 276.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-274, en donde X_6 es T.
- 277.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-276, en donde X_7 es A.
- 278.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-276, en donde X_7 es

V.

- 279.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-278, en donde X_8 es I.
- 280.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-278, en donde X_8 es T.
- 281.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-280, en donde X_9 es H.
- 282.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-280, en donde X_9 es R.
- 283.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-282, en donde X_{10} es A.
- 284.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-282, en donde X_{10} es V.
- 285.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-282, en donde X_{10} es I.
- 286.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-282, en donde X_{10} es L.
- 287.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-286, en donde X_n es I.
- 288.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-286, en donde X_n es T.
- 289.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-286, en donde X_n es S.
- 290.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-286, en donde X_n es F.

- 291.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-290, en donde X_{12} es A.
- 292.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-290, en donde X_{12} es G.
- 293.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-292, en donde X_{13} es E.
- 294.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-292, en donde X_{13} es V.
- 295.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-292, en donde X_{13} es L.
- 296.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-295, en donde X_{14} es K.
- 297.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-295, en donde X_{14} es R.
- 298.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-297, en donde X_{15} es E.
- 299.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-297, en donde X_{15} es Q.
- 300.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-299, en donde X_{16} es H.
- 301.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-299, en donde X_{16} es P.
- 302.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-299, en donde X_{16} es R.
- 303.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-302, en donde X_{17}

es D.

- 304.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-302, en donde X_{17} es E.
- 305.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-304, en donde X_{18} es S.
- 306.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-304, en donde X_{i8} es L.
- 307.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-304, en donde X_{18} es T.
- 308.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-304, en donde X_{18} es G.
- 309.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-308, en donde X_{19} es K.
- 310.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-308, en donde X_{19} es R.
- 311.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-310, en donde X_{20} es E.
- 312.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-310, en donde X_{20} es N.
- 313.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-312, en donde X_{2i} es S.
- 314.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-312, en donde X_{21} es P.
- 315.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-314, en donde X_{ffi} es S.

- 316.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-314, en donde X_{22} es R.
- 317.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-316, en donde X_{23} es S.
- 318.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-316, en donde X_{23} es G.
- 319.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es N.
- 320.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es A.
- 321.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es C.
- 322.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es D.
- 323.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es E.
- 324.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es F.
- 325.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es G.
- 326.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es H.
- 327.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es I.
- 328.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24}

es K.

- 329.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es L.
- 330.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es M.
- 331.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es P.
- 332.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es Q.
- 333.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es R.
- 334.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es S.
- 335.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es T.
- 336.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es V.
- 337.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es W.
- 338.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-318, en donde X_{24} es Y.
- 339.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es P.
- 340.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es A.

- 341.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es C.
- 342.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es D.
- 343.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es E.
- 344.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es F.
- 345.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es G.
- 346.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es H.
- 347.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es I.
- 348.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es K.
- 349.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es L.
- 350.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es M.
- 351.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es N.
- 352.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es Q.
- 353.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25}

es R.

- 354.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es S.
- 355.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es T.
- 356.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es V.
- 357.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es W.
- 358.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-338, en donde X_{25} es Y.
- 359.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-358, en donde X_{26} es V.
- 360.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-358, en donde $X^{\wedge}$ es I.
- 361.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-360, en donde X_{27} es F.
- 362.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-360, en donde X_{27} es L.
- 363.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-360, en donde X_{27} es V.
- 364.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-363, en donde X_{28} es D.
- 365.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-363, en donde X_{28} es ausente.

- 366.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-365, en donde X_{29} es T.
- 367.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-365, en donde X_{29} es V.
- 368.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-367, en donde X_{30} es F.
- 369.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-367, en donde X_{30} es V.
- 370.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-369, en donde X_{31} es A.
- 371.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-369, en donde X_{31} es G.
- 372.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-371, en donde dicho polipéptido comprende no más de diez la sustitución de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.
- 373.** El método de la reivindicación 372, en donde dicho polipéptido comprende no más de siete la sustitución de aminoácidos respecto a dicho dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.
- 374.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 262-373, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos 10 veces más de afinidad de unión que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.
- 375.** El método de la reivindicación 374, en donde dicho polipéptido une

CD47 con por lo menos una afinidad de unión 100 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

376. El método de la reivindicación 375, en donde dicho polipéptido une CD47 con por lo menos una afinidad de unión 1000 veces mayor que el dominio SIRP- α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 1-10.

377. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-376, en donde dicho polipéptido no tiene la secuencia de
EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYN
QREGHFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPD
TEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 22);
EEEVQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTLTSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQRQGHFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSP
DTEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 23);
EEEVQIIQPDKSVSVAAGESVILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARLLIYN
QREGPFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKLRKGSPD
TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 24);
EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLSPVGPIQWFRGAGPARVLIYN
QRQGPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKLRKGSPD
TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 25);
EEEIQVIQPDKSVSVAAGESVIIHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
NQRQGRFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKVRKGS
PDTEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 26);
EEEVQIIQPDKSVSVAAGESIILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY

NQREGRFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKLRKGGSP
 DTEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 27);
 EEEVQLIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
 NQREGPFPRVTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKFRKGGSP
 DTEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 28);
 EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIY
 NQRQGPFPRTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYCIKFRKGGSP
 DDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 29);
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARLLIYN
 QRQGPFPRTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYCVKFRKGGSPD
 TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 30);
 EEEVQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIY
 NQKQGPFPRTTVISETTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKFRKGGSPD
 TEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 31); o
 EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARVLIYN
 QRQGPFPRTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYCIKFRKGGSPD
 TEVKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 32).

- 378.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-377, en donde dicho polipéptido además comprende un dominio D2 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 33 a modo de conector.
- 379.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-378, en donde dicho polipéptido además comprende un dominio D3 de SIRP- α de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 34 por medio de un conector.
- 380.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-379, en donde dicho

polipéptido además comprende un primer monómero de dominio Fc unido al N- o C-terminal de dicho polipéptido a modo de conector.

- 381.** El método de la reivindicación 380, en donde dicho primer monómero de dominio Fc es incapaz de formar un dominio Fc o un dímero.
- 382.** El método de la reivindicación 380, en donde dicho primer monómero de dominio Fc se combina con un segundo monómero de dominio Fc para formar un dominio Fc o un dímero.
- 383.** El método de la reivindicación 382, en donde dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs comprende sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización entre dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs.
- 384.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 380-383, en donde cada uno de dichos primer y segundo monómero de dominio Fcs comprende una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L352K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R, E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T, y K409I, en relación con la secuencia de IgG1 humana.
- 385.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-384, en donde dicho primer y segundo monómero de dominio Fcs comprende sustituciones de aminoácidos diferentes.
- 386.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 380-385, en donde dicho

primer monómero de dominio Fc comprende T366W.

- 387.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-386, en donde dicho segundo monómero de dominio Fc comprende T366S, L368A, y Y407V.
- 388.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-387, en donde dicho primer monómero de dominio Fc comprende D399K.
- 389.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-388, en donde dicho segundo monómero de dominio Fc comprende K409D.
- 390.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-389, en donde dicho dominio Fc tiene una unión Fcy reducida.
- 391.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-390, en donde dicho dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 y dicho primer y/o segundo monómero de dominio Fcs comprende L14A, L15A, y G17A, en relación con la secuencia de SEQ ID NO: 35.
- 392.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-391, en donde dicho dominio Fc de un anticuerpo IgG2 o IgG4.
- 393.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 382-392, en donde dicho dominio Fc de un anticuerpo IgG2 comprende la sustitución de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID NO: 36.
- 394.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-379, en donde dicho polipéptido además comprende una albúmina de suero humano (HSA) (SEQ ID NO: 37) o un péptido de unión a albúmina unido al N- o C-terminal de dicho polipéptido a modo de conector.
- 395.** El método de la reivindicación 394, en donde dicha HSA comprende la sustitución de aminoácidos C34S y/o K573P, respecto a SEQ ID NO: 37.

- 396.** El método de la reivindicación 394, en donde dicho péptido de unión a albúmina comprende la secuencia de SEQ ID NO: 38.
- 397.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 -396, en donde dicho conector es A o AAAL.
- 398.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 -379, en donde dicho polipéptido además comprende un polímero de polietilenglicol (PEG).
- 399.** El método de la reivindicación 398, en donde dicho polímero PEG se junta con una sustitución de cisteína en dicho polipéptido.
- 400.** El método de la reivindicación 399, en donde dicha sustitución de cisteína es I7C, A16C, S20C, T20C, A45C, G45C, G79C, S79C, o A84C, en relación con la secuencia de cualquiera de SEQ ID NOs: 11-21.
- 401.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-400, en donde dicho anticuerpo es un anticuerpo inmuno-oncológico.
- 402.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-401, en donde dicho anticuerpo tiene fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) o actividad citotóxica celular dependiente de anticuerpos (ADGG).
- 403.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-402, en donde dicho anticuerpo comprende un dominio Fc de un anticuerpo IgG2 o IgG4.
- 404.** El método de la reivindicación 403, en donde dicho dominio Fc de un anticuerpo IgG2 comprende la sustitución de aminoácidos A111S y P112S, en relación con la secuencia de SEQ ID NO: 36.
- 405.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 -404, en donde dicho anticuerpo se une a una proteína expresada por una célula del sistema inmune.
- 406.** El método de la reivindicación 405, en donde dicha célula del sistema

inmune es una célula T.

- 407.** El método de la reivindicación 406, en donde dicha célula T es una célula T reguladora.
- 408.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 405-407, en donde dicho anticuerpo se une con CTLA4, PD1, TIM-3, BTLA, VISTA, LAG-3, CD28, OX40, GITR, CD137, CD27, HVEM, CCR4, CD25, CD103, Klrg1, Nrp1, CD278, Gpr83, TIGIT, CD154, CD160, o PD1H.
- 409.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-408, en donde dicho anticuerpo se direcciona a una célula antígena.
- 410.** El método de la reivindicación 409, en donde dicha célula antígena está en una célula de cáncer.
- 411.** El método de la reivindicación 409 o 410, en donde dicho anticuerpo binds se une con 5T4, AGS-16, ALK1, ANG-2, B7- H3, B7-H4, c-fms, c-Met, CA6, CD123, CD19, CD20, CD22, EpCAM, CD30, CD32b, CD33, CD37, CD38, CD40, CD52, CD70, CD74, CD79b, CD98, CEA, CEACAM5, CLDN18.2, CLDN6, CS1, CXCR4, DLL-4, EGFR, EGP-1, ENPP3, EphA3, ETBR, FGFR2, fibronectina, FR-alfa, GCC, GD2, glipican-3, GPNMB, HER-2, HER3, HLA-DR, ICAM-1, IGF-1R, IL-3R, LIV-1, mesotelina, MUC16, MUC1, NaPi2b, Nectin-4, Notch 2, Notch 1, PD-L1, PD-L2, PDGFR-a, PS, PSMA, SLTRK6, STEAP1, TEM1, VEGFR, CD25, CD27L, DKK-1, o CSF-1R.
- 412.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 -411, en donde dicho anticuerpo se selecciona entre el grupo formado por pembrolizumab, nivolumab, pidilizumab, MEDI0680, MEDI6469, Ipilimumab, tremelimumab, urelumab, vantictumab, varlilumab, mogamalizumab, y

MSB0010718C.

- 413.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-412, en donde dicho polipéptido y dicho anticuerpo son administrados sustancialmente de forma simultánea, seguida por la administración de dicho anticuerpo solo.
- 414.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-412, en donde dicho anticuerpo se administra primero, seguido por la administración de dicho polipéptido y dicho anticuerpo sustancialmente de forma simultánea.
- 415.** Un método para tratar una enfermedad asociado con actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, método que comprende;
- (a)** determinar la secuencia de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y
 - (b)** administrar a dicho sujeto un polipéptido que comprende una variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo;
- en donde dicha variante D1 (SIRP- α) de alta afinidad en dicho polipéptido tiene la misma secuencia de aminoácidos que la de una SIRP- α de dicho sujeto.
- 416.** Un método para tratar una enfermedad asociado con actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, método que comprende;
- (a)** determinar la secuencia de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y
 - (b)** administrar a dicho sujeto un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo;
- en donde dicho polipéptido tiene inmunogenicidad mínima en dicho sujeto.

- 417.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-416, en donde dicha enfermedad es cáncer.
- 418.** El método de la reivindicación 417, en donde dicho cáncer se selecciona entre cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de los bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula, cáncer con tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuellos, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel (no melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de la pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor de cerebro y carcinoma.
- 419.** El método de la reivindicación 418, en donde dicho cáncer es un cáncer de tumor sólido.
- 420.** El método de la reivindicación 418, en donde dicho cáncer es un cáncer hematológico.
- 413.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-412, en donde dicho polipéptido y dicho anticuerpo son administrados sustancialmente de forma simultánea, seguida por la administración de dicho anticuerpo solo.
- 414.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-412, en donde dicho

anticuerpo se administra primero, seguido por la administración de dicho polipéptido y dicho anticuerpo sustancialmente de forma simultánea.

415. Un método para tratar una enfermedad asociado con actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, método que comprende;

- (a) determinar la secuencia de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y
- (b) administrar a dicho sujeto un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo;

en donde dicha variante SIRP- α D1 de alta afinidad en dicho polipéptido tiene la misma secuencia de aminoácidos que la de una SIRP- α de dicho sujeto.

416. Un método para tratar una enfermedad asociado con actividad SIRP- α y/o CD47 en un sujeto, método que comprende;

- (a) determinar la secuencia de aminoácidos de SIRP- α del sujeto; y
- (b) administrar a dicho sujeto un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo;

en donde dicho polipéptido tiene inmunogenicidad mínima en dicho sujeto.

417. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 -416, en donde dicha enfermedad es cáncer.

418. El método de la reivindicación 417, en donde dicho cáncer se selecciona entre cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma

múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de los bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula, cáncer con tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuellos, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel (no melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de la pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor de cerebro y carcinoma.

- 419.** El método de la reivindicación 418, en donde dicho cáncer es un cáncer de tumor sólido.
- 420.** El método de la reivindicación 418, en donde dicho cáncer es un cáncer hematológico.
- 421.** El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-416, en donde dicha enfermedad es una enfermedad inmunológica.
- 422.** El método de la reivindicación 421, en donde dicha enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria.
- 423.** El método de la reivindicación 422, en donde dicha enfermedad autoinmune o inflamatoria es esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpos, enfermedad de injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma,

síndrome coronario agudo, reperfusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis o miositis autoinmune inflamatoria.

424. A kit que comprende:

- (i) un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad;
- (ii) un anticuerpo; y
- (iii) instrucciones para administrar (i) y (ii) a un sujeto que tiene una enfermedad asociada con actividad SIRP- α y/o CD47.

425. Un kit que comprende:

- (i) un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad; y
- (ii) instrucciones para administrar (i) con un anticuerpo a un sujeto que tiene una enfermedad asociada con actividad SIRP- α y/o CD47.

426. Un kit que comprende:

- (i) un anticuerpo; y
- (ii) instrucciones para administrar (i) con un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad t a un sujeto que tiene una enfermedad asociada con actividad SIRP- α y/o CD47.

427. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 424-426, en donde dicha enfermedad es cáncer.

428. El kit de la reivindicación 427, en donde dicho cáncer se selecciona entre

cáncer de tumor sólido, cáncer hematológico, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin, mieloma múltiple, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer de pulmón, cáncer de los bronquios, cáncer de hígado, cáncer de ovario, cáncer de colon y recto, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de vesícula, cáncer con tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de tiroides, cáncer de cabeza y cuellos, cáncer orofaríngeo, cáncer de esófago, melanoma, cáncer de piel (no melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer inducido por virus, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de células renales, cáncer de la pelvis renal, leucemia, linfoma, sarcoma, glioma, tumor de cerebro y carcinoma.

- 429.** El kit de la reivindicación 428, en donde dicho cáncer es un cáncer de tumor sólido.
- 430.** El kit de la reivindicación 428, en donde dicho cáncer es un cáncer hematológico.
- 431.** El kit de cualquiera de las reivindicaciones 424-426, en donde dicha enfermedad es una enfermedad inmunológica.
- 432.** El kit de la reivindicación 431, en donde dicha enfermedad inmunológica es una enfermedad autoinmune o una enfermedad inflamatoria.
- 433.** El kit de la reivindicación 432, en donde dicha enfermedad autoinmune o inflamatoria es esclerosis múltiple, artritis reumatoide, una espondiloartropatía, lupus eritematoso sistémico, una enfermedad inflamatoria o autoinmune mediada por anticuerpos, enfermedad de

injerto versus huésped, sepsis, diabetes, psoriasis, aterosclerosis, síndrome de Sjogren, esclerosis sistémica progresiva, escleroderma, síndrome coronario agudo, reperfusión isquémica, enfermedad de Crohn, endometriosis, glomerulonefritis, miastenia grave, fibrosis pulmonar idiopática, asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), vasculitis o miositis autoinmune inflamatoria.

- 434.** Una composición que comprende (i) un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y (ii) un anticuerpo.
- 435.** La composición de la reivindicación 434, en donde dicha composición tiene inmunogenicidad mínima.
- 436.** La composición de la reivindicación 434 o 435, en donde dicha composición tiene una afinidad optimizada a CD47.
- 437.** La composición de cualquiera de las reivindicaciones 434-436, en donde dicha composición tiene farmacocinéticas optimizadas.
- 438.** Una composición farmacéutica que comprende una composición de cualquiera de las reivindicaciones 434-437 y uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 439.** Un método para alterar una respuesta inmunológica en un sujeto que incluye administrar al sujeto un polipéptido que comprende variante D1 de una proteína reguladora de señales α (SIRP- α) de alta afinidad y un anticuerpo, alterando de esa manera la respuesta inmunológica en el sujeto.
- 440.** El método de la reivindicación 439, en donde alterar la respuesta inmunológica comprende suprimir la respuesta inmunológica.

TERAPIA DE COMBINACIÓN DE VARIANTES DE SIRP-ALFA Y ANTICUERPOS

RESUMEN

La invención presenta composiciones que incluyen (i) un polipéptido que incluye una variante D1 de proteína reguladora de señal a (SIRP- α) y (ii) un anticuerpo. En algunas formas de realización, el polipéptido en la composición incluye una variante D1 de SIRP- α de alta afinidad fusionada a un monómero de dominio Fc, una albúmina sérica bovina (HSA), un péptido de unión a albúmina, o un polímero (por ejemplo, un polímero de polietilenglicol (PEG)). En algunas formas de realización, el anticuerpo en la composición se direcciona contra una célula, tal como una célula neoplásica o una célula del sistema inmunológico (por ejemplo, una célula T, por ejemplo, una célula T reguladora). En algunas formas de realización, las composiciones de la invención incrementan la fagocitosis de una célula blanco (por ejemplo, una célula neoplásica), eliminan células T reguladoras, matan una célula neoplásica, y/o tratan una enfermedad (por ejemplo, cáncer) en un sujeto.

PÁGINA DE DATOS TÉCNICOS DE LA SOLICITUD Art. 1.76 del CFR 37	Expediente de agente	51073-006002
	Nº:	
	Número de la solicitud:	-
<u>Título de la invención:</u> TERAPIA DE COMBINACIÓN DE VARIANTES DE SIRP-ALFA Y ANTICUERPOS		
La página de datos técnicos de la solicitud constituye parte de la solicitud provisional o no provisional para la cual se presente. El formulario siguiente contiene los datos bibliográficos dispuestos en un formato especificado por la Oficina de Patentes y marcas de los EE UU según el art 1.76 del CFR 37. Este documento puede ser completado electrónicamente y enviado a la Oficina en formato electrónico utilizando el sistema de Presentaciones electrónicas (EFS) o el documento puede ser impreso e incluido en una solicitud presentada impresa en papel.		

Inventor 1

Nombre:	Jaume
Apellido:	PONS
Residencia:	Residente de los Estados Unidos
Ciudad:	San Francisco
Estado:	CA
País:	EE.UU.
Dirección postal del solicitante:	4598 17th st
Ciudad:	San Francisco
Estado:	CA
Código postal:	94114
País:	EE.UU.

Inventor 2

Nombre:	Laura
Apellido:	DEMING
Residencia:	Residente de los Estados Unidos
Ciudad:	Palo Alto
Estado:	CA
País:	EE.UU.
Dirección postal del solicitante:	555 Bryant St #517
Ciudad:	Palo Alto
Estado:	CA
Código postal:	94301
País:	EE.UU.

Inventor 3

Nombre:	Corey
Apellido:	GOODMAN
Residencia:	Residente de los Estados Unidos
Ciudad:	Marshall
Estado:	CA
País:	EE.UU.
Dirección postal del solicitante:	PO Box 803
Ciudad:	Marshall
Estado:	CA
Código postal:	94940
País:	EE.UU.

Información para envíos postales (Escriba el número de cliente o complete los casilleros que figuran a continuación)

Número de cliente:	21559
--------------------	-------

Información sobre la solicitud

Título de la invención:	TERAPIA DE COMBINACIÓN DE VARIANTES DE SIRP-ALFA Y ANTICUERPOS	
Expediente de agente N°:	51073-006002	Se reivindica el status de pequeña empresa
Tipo de solicitud:	Provisional	
Tema:	Utilidad	

Información sobre el representante

Se proveerán los datos de todos los representantes que posean un poder con respecto a la presente solicitud. La provisión de esta información no constituye un poder en la solicitud (véase art 1.32 del CFR 37). Proveer el nombre del cliente o completar los casilleros que figuran a continuación con el nombre del representante. En caso de completarse ambas secciones, durante la tramitación se utilizará el número de cliente.

Número de cliente:	21559
--------------------	-------

Información sobre el solicitante

Esta información en la página de datos técnicos de la solicitud no reemplaza el cumplimiento de cualquier requerimiento de la parte 3 del art. 37 del CFR con referencia al registro de cesión en la Oficina.

Solicitante 1

Esta sección no deberá ser completada si el solicitante es el inventor (o uno de los inventores conjuntos o inventores según 37 CFR 1.45). La información a ser provista en esta sección es el nombre y la dirección del representante

legal que es el solicitante de acuerdo con el 37 CFR 1.43, o el nombre y dirección del cesionario, persona a la cual el inventor esta obligado a ceder la invención, o persona que muestra poseer suficientes derechos sobre objeto que se solicita según 37 CFR 1.46. Si el solicitante es un solicitante de acuerdo con 37 CFR 1.46 (cesionario, persona a la cual el inventor esta obligado a ceder, o persona que demuestre suficientes derechos sobre el objeto) junto con uno o mas inventores conjuntos, entonces el inventor o inventores conjuntos, que también sean solicitantes, deberán ser identificados en esta sección.

Cesionario.

El cesionario es una empresa

Nombre de la empresa:

Alexo Therapeutics International

Dirección postal

Dirección:	c/o Alexo Therapeutics, Inc. – 951 Gateway Blvd, Suite 201		
Ciudad:	South San Francisco	Estado:	CA
País:	EE.UU.	Código postal:	94080

Firmas

Se requiere la firma del solicitante o del representante de acuerdo con el art. 1.33 del CFR 37. Véase el art 1.4 (d) del CFR 37 con referencia al formato de la firma.

Nombre:

Michael J. Belliveau, Ph. D.

Número de matrícula:

52608

Fecha:

07/08/2015

Esta información es requerida por el art. 1.76 del CFR 37. La misma es requerida para la obtención o mantenimiento de un beneficio relacionado con la presentación de una solicitud (y su procesamiento por parte de USPTO).

La confidencialidad se rige por el art 122 del USC 35 y 1.14 del CFR 37. Se estima que el llenado de la información insume 23 minutos. El tiempo variará según diferencias individuales. Cualquier comentario referido al tiempo requerido para completar este formulario y/o sugerencias que puedan facilitar su ejecución serán enviadas a Chief Information Officer, US Patent and Trademark Office. US Department of Commerce; PO Box 1450, Alexandria Va 22313-1450. No enviar aranceles o documentos con información a esta dirección. Envíense estos a: Commissioner for Patents, PO Box 1450 Alexandria VA 22313-1450.

LEY DE PRIVACIDAD

La Ley de Privacidad de 1974 (P.L. 93-579) requiere que se provea cierta información en relación con la presentación del formulario adjunto relacionado con una solicitud de patente o patente, De acuerdo con lo requerido por la Ley, le informamos que: (1) la autoridad general con respecto a la recopilación de esta información es U.S.C. 35 2 (b); (2) la presentación de la información es voluntaria; y (3) el propósito principal para el cual la Oficina de Patentes de los EE UU utilizará esta información es procesar y/o examinar la presentación de una solicitud de patente o patente, Si no se presentara la información requerida, existe la posibilidad de que a la Oficina de Patentes y Marcas no le sea posible procesar y/o examinar la presentación, lo cual puede tener como consecuencia la finalización de los procedimientos o el abandono de la solicitud o expiración de la patente.

La información provista por el solicitante en el presente formulario está destinada normalmente a lo siguiente:

1. La información del presente formulario recibirá tratamiento confidencial en la medida que lo permita la Ley de Libertad de Información (552 del U.S.C. 5) y Ley de Privacidad (552a del U.S.C. 5), Los contenidos provenientes del sistema del registro pueden ser revelados al Departamento de Justicia a fin de determinar si la revelación de estos registros es requerida por la Ley de Libertad de Información;
2. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros en el curso de la presentación de evidencia a una corte, magistrado o tribunal administrativo, incluyendo revelaciones al abogado oponente en el curso de las negociaciones;
3. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros a un miembro de Congreso que presente una solicitud con referencia a un individuo al cual pertenecen los registros, cuando dicho individuo ha solicitado la colaboración del Miembro del Congreso con respecto al asunto al cual se refiere el registro;
4. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al un contratista de una Agencia que necesite de tal información a fin de redactar un contrato, Las personas que reciben la información deberán cumplir los requerimientos de la Ley de Privacidad de 1974, según sus enmiendas, de acuerdo con 552^a (m) del U.S.C.5;
5. Como procedimiento de rutina, es posible revelar a la Oficina de la Organización de la Propiedad Intelectual Mundial, una Solicitud Internacional presentada bajo el Tratado de Cooperación en Patentes que se encuentre en este sistema, de acuerdo con el Tratado de Cooperación en Patentes;
6. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema

de registros a otra dependencia federal para revisión por motivos de Seguridad Nacional (181 U.S.C 35) y para revisión de acuerdo con la Ley de Energía Atómica (218 (c) U.S.C. 42;

7. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al Administrador de Servicios Generales o la persona designada por el mismo, durante una inspección de los registros realizada por GSA como parte de la responsabilidad de la institución de recomendar mejoras en las prácticas de manejo de los registros y programas, de acuerdo con 2904 y 2906 del U.S.C. 44, Tales revelaciones se realizarán de acuerdo con las leyes de GSA que gobiernan la inspección de registros con dicho propósito y otras directivas pertinentes (es decir, GSA o Comercio), Tales revelaciones no serán utilizadas para efectuar resoluciones con respecto a individuos;

8. Como procedimiento de rutina, es posible revelar un registro de este sistema de registros al público luego de la publicación de la solicitud de acuerdo con 122(b) del U.S.C. 35 o de la emisión de una patente de acuerdo con 151 del U.S.C. 35, Además, normalmente es posible revelar al público un registro, con las limitaciones impuestas por 1,14 del CFR 37, si el registro fue presentado en una solicitud luego abandonada o cuya tramitación ha finalizado y que es mencionada como referencia por una solicitud publicada, una solicitud abierta a la inspección del público o una patente emitida;

9. Como procedimiento de rutina, es posible que se revele un registro de este sistema de registros a una entidad reguladora o judicial, federal o local si la USPTO considera que existe una violación o violación potencial de una ley o reglamento.