

ANTICUERPOS Y METODOS DE SU UTILIZACION

1. SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes provisionales estadounidenses Nos: 62 / 431.279, presentada el 7 de diciembre de 2016; 62 / 570,451, presentada el 10 de octubre de 2017; 62 / 582,814, presentado el 7 de noviembre de 2017; y 62 / 586.605, presentada el 15 de noviembre de 2017, cada una de las cuales se incorpora por referencia en este documento en su totalidad.

2. CAMPO DE LA INVENCION

[0002] La presente invención se refiere a anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y/o PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) e métodos de uso de esos anticuerpos.

3. ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0003] CTLA-4 es un receptor inhibidor aumentado sobre células T (Alegre et al, 2001, *Nat. Rev. Immunol.* 1: 220-8). CTLA-4 inhibe la reacción inmunológica en varias formas: él compite con el receptor coestimulante de células T CD28 por sus ligantes, CD80 y CD86, y así bloquea la coestimulación; él señala negativamente para inhibir la activación de células T; y puede también capturar CD80 y CD86 de células opuestas por transendocitosis, resultando en inhibición de la coestimulación de células T vía CD28 (Krummel y Allison, 1995, *J. Exp. Med.* 182: 459-465; Walunas et al, 1994, *Immunity* 1: 405-413; Qureshi et al, 2011, *Science* 332: 600-603).

[0004] PD-1 es otro receptor inhibidor que es expresado sobre células B activadas, células T y células mieloides (Agata et al (1996), *Int. Immunol.* 8: 765-72; Okazaki et al (2002), *Curr. Opin. Immunol.* 14: 391-779-82; Bennett et al (2003), *J. Immunol.* 170: 711-8). Se han identificado dos ligantes para PD-1, PD-L1 y PD-L2, y se demostró que ellos reducen la activación de células T mediante ligación a PD-1 (Freeman et al (2000), *J. Exp. Med.* 192: 1027-34; Latchman et al (2001), *Nat. Immunol.* 2: 261-8; Carter et al (2002), *Eur. J. Immunol.* 32: 634-43). La interacción entre PD-1 y PD-L1 resulta en reducción de los linfocitos que se infiltran en tumores, reducción de la proliferación mediada por receptores de células T y evasión inmune por

las células cancerosas (Dong et al (2003), *J. Mol. Med.* 81: 281-7; Blank et al (2005), *Cancer Immunol. Immunother.* 54: 307-314; Konishi et al (2004), *Clin. Cancer Res.* 10: 5094-100). Dicha supresión inmune puede revertirse por la inhibición de la interacción local de PD-1 con PD-L1 (Iwai et al (2002), *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 12293-7; Brown et al (2003), *J. Immunol.* 170: 1257-66).

[0005] Considerándose el papel importante de CTLA-4 y PD-1 en la modulación de reacciones inmunes, terapias proyectadas para antagonizar la señalización de ambos, CTLA-4 y PD-1, representan importante promesa para el tratamiento de enfermedades relacionadas a la supresión inmunológica mediada por CTLA-4 y/o PD-1.

4. DESCRIPCION RESUMIDA DE LA INVENCION

[0006] La presente revelación ofrece anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y/o PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y antagonizan la función de CTLA-4 y/o PD-1, por ejemplo, supresión inmunológica mediada por CTLA-4 y/o PD-1. También se suministran composiciones farmacéuticas y kits que comprenden dichos anticuerpos, ácidos nucleicos que codifican dichos anticuerpos, vectores de expresión y células hospedadoras para la producción de dichos anticuerpos y métodos de tratamiento de pacientes utilizando dichos anticuerpos. Los anticuerpos descritos en el presente son particularmente útiles para incrementar la activación de células T en reacción a antígenos (por ejemplo, antígenos de tumores o antígenos de enfermedades infecciosas) y así, para el tratamiento de cáncer en pacientes o tratamiento o prevención de enfermedades infecciosas en pacientes.

[0007] Consecuentemente, en un aspecto, la presente invención suministra un método de incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y

X₂ es N o S;

b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);

c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;

d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:

X₁ es S o G;

X₂ es R, S, o T; y

X₃ es G o A;

e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:

X₁ es G o A;

X₂ es A o T; y

X₃ es T, S, R o N; y

f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:

X₁ es S o T; y

X₂ es W o F;

en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

g. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);

h. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:

X₁ es Y o F;

X₂ es K o E; y

X₃ es K o M;

i. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:

X₁ es G o V; y

X₂ es H o Y;

- j. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- k. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- l. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0008] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
 - X₁ es S o A; y
 - X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
 - X₁ es S o G;
 - X₂ es R, S, o T; y
 - X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
 - X₁ es G o A;
 - X₂ es A o T; y
 - X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en

que:

X_1 es S o T; y

X_2 es W o F;

en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

g. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);

h. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:

X_1 es Y o F;

X_2 es K o E; y

X_3 es K o M;

i. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:

X_1 es G o V; y

X_2 es H o Y;

j. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);

k. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y

l. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0009] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:

X_1 es S o A; y

X_2 es N o S;

- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
- X₁ es S o G;
 - X₂ es R, S, o T; y
 - X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
- X₁ es G o A;
 - X₂ es A o T; y
 - X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:
- X₁ es S o T; y
 - X₂ es W o F;
- en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:
- g. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- h. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:
- X₁ es Y o F;
 - X₂ es K o E; y
 - X₃ es K o M;
- i. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:
- X₁ es G o V; y
 - X₂ es H o Y;

- j. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- k. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- l. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0010] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;
X₂ es A o T; y
X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:

X₁ es S o T; y

X₂ es W o F;

[0011] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:

X₁ es S o A; y

X₂ es N o S;

b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);

c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;

d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLYX₃ (SEQ ID N° 43), en que:

X₁ es S o G;

X₂ es R, S, o T; y

X₃ es G o A;

e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:

X₁ es G o A;

X₂ es A o T; y

X₃ es T, S, R o N; y

f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:

X₁ es S o T; y

X₂ es W o F;

[0012] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;
X₂ es A o T; y
X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:
X₁ es S o T; y
X₂ es W o F.

[0013] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de incremento o

inducción de reacción inmunológica en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:
X₁ es Y o F;
X₂ es K o E; y
X₃ es K o M;
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:
X₁ es G o V; y
X₂ es H o Y;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0014] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:

X₁ es Y o F;

X₂ es K o E; y

X₃ es K o M;

c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:

X₁ es G o V; y

X₂ es H o Y;

d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);

e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y

f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0015] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);

b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:

X₁ es Y o F;

X₂ es K o E; y

X₃ es K o M;

c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:

X₁ es G o V; y

X₂ es H o Y;

d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);

e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y

f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0016] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de incremento o

inducción de reacción inmunológica en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano, opcionalmente como monoterapia, en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;
X₂ es A o T; y
X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:
X₁ es S o T; y
X₂ es W o F.

[0017] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano, opcionalmente

como monoterapia, en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂Y LX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;
X₂ es A o T; y
X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:
X₁ es S o T; y
X₂ es W o F.

[0018] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano, opcionalmente como monoterapia, en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que

comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLY₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;
X₂ es A o T; y
X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:
X₁ es S o T; y
X₂ es W o F.

[0019] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, opcionalmente como monoterapia, en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:
X₁ es Y o F;
X₂ es K o E; y
X₃ es K o M;
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:
X₁ es G o V; y
X₂ es H o Y;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0020] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, opcionalmente como monoterapia, en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:
X₁ es Y o F;
X₂ es K o E; y
X₃ es K o M;
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:
X₁ es G o V; y
X₂ es H o Y;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0021] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, opcionalmente como monoterapia, en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:
X₁ es Y o F;
X₂ es K o E; y
X₃ es K o M;
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:
X₁ es G o V; y
X₂ es H o Y;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0022] En algunas realizaciones, CDRH1 del primer anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 20 ó 21. En algunas realizaciones, CDRH3 del primer anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 24 ó 26. En algunas realizaciones, CDRL1 del primer anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 27, 28 ó 29. En algunas realizaciones, CDRL2 del primer anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 30-35. En algunas realizaciones, CDRL3 del primer anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 36, 37 ó 38. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 establecidas en SEQ ID N° 20, 22 y 24; 21, 22 y 24; ó 21, 22 y 26, respectivamente. En algunas realizaciones, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo

aislado comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3 establecidas en SEQ ID N° 27, 30 y 36; 28, 31 y 36; 29, 32 y 37; 29, 33 y 38; 29, 34 y 36; ó 29, 35 y 38, respectivamente.

[0023] En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36; 20, 22, 24, 29, 32 y 37; 20, 22, 24, 29, 33 y 38; 21, 22, 24, 27, 30 y 36; 21, 22, 24, 29, 33 y 38; 20, 22, 24, 28, 31 y 36; 20, 22, 24, 29, 34 y 36; 20, 22, 24, 29, 35 y 38; 21, 22, 26, 27, 30 y 36; 21, 22, 26, 29, 32 y 37; 21, 22, 26, 29, 33 y 38; ó 21, 22, 26, 29, 35 y 38, respectivamente. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36, respectivamente.

[0024] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 116. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 1 y 9-13. En algunas realizaciones, la región variable de cadena pesada del primer anticuerpo aislado comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 1 y 9-13.

[0025] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 47. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 14-19. En algunas realizaciones, la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 14-19.

[0026] En algunas realizaciones, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17,

respectivamente. En algunas realizaciones, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente.

[0027] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana.

[0028] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 51-54 y 117 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 51 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 117 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59.

[0029] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada seleccionada desde el grupo que consiste de IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ humano. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada IgG₁. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 60. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada IgG₁ comprende las mutaciones S239D/I332E, numeradas según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 61. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada IgG₁ comprende las mutaciones S239D/A330L/I332E, numeradas según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 62. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada IgG₁ comprende las mutaciones L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L, numeradas según el sistema de

numeración UE. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 63. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada de IgG₁ es IgG₁ no fucosilada. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada IgG₂. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 118.

[0030] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena ligera seleccionada desde el grupo que consiste de Igκ e Igλ humano. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena ligera Igκ. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 64.

[0031] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado se liga al mismo epítipo de CTLA-4 humano de un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 14. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 97-102.

[0032] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es antagonista para CTLA-4 humano.

[0033] En algunas realizaciones, CDRH2 del segundo anticuerpo aislado comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 76-79. En algunas realizaciones, CDRH3 del segundo anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 80, 81 u 82. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 del segundo anticuerpo aislado comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 establecidas en SEQ ID N° 75, 76 y 80; 75, 76 y 81; 75, 76 y 82; 75, 77 y 81; 75, 78 y 81; ó 75, 79 y 81, respectivamente.

[0034] En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo aislado comprende las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 75, 78, 81, 83, 84 y 85; ó 75, 79, 81, 83, 84 y 85, respectivamente. En algunas realizaciones,

CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo aislado comprende las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[0035] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 88. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 66-73. En algunas realizaciones, la región variable de cadena pesada del segundo anticuerpo aislado comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 66-73. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74.

[0036] En algunas realizaciones, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente.

[0037] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[0038] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 91 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 93. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 92 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N°

93. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 120 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 93.

[0039] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada seleccionada desde el grupo que consiste de IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂ humano. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada IgG₁. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada IgG₁ comprende una mutación N297A, numerada según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 94. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada IgG₄. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante de cadena pesada IgG₄ comprende una mutación S228P, numerada según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 95.

[0040] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena ligera seleccionada desde el grupo que consiste de Igκ e Igλ humano. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena ligera Igκ. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado comprende una región constante de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 64.

[0041] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado se liga al mismo epítipo de PD-1 humano de un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 66 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de PD-1 humano, que consiste de una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 103-107.

[0042] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es antagonista para PD-1 humano.

[0043] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es seleccionado desde el

grupo que consiste de pembrolizumab, nivolumab y pidilizumab. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es pembrolizumab.

[0044] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es seleccionado desde el grupo que consiste de ipilimumab y tremelimumab. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es ipilimumab.

[0045] En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg, 3 mg/kg ó 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es administrado en dosis de 200 mg, opcionalmente en que el segundo anticuerpo aislado es pembrolizumab. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg, 3 mg/kg ó 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 0,3 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg ó 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 0,3 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado cada seis semanas. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es administrado cada dos semanas o cada tres semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado cada dos semanas o cada tres semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado cada cerca de seis semanas y el

segundo anticuerpo aislado es administrado cada cerca de dos semanas o cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 0,3 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a 1 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a 3 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado se administra a 1 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado se administra a 6 mg/kg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 0,3 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg cada seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 3 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado a cerca de 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el segundo anticuerpo aislado es administrado a cerca de 6 mg/kg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado es administrado por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es administrado por vía intravenosa. En algunas realizaciones, el primer anticuerpo aislado y el segundo anticuerpo aislado son ambos administrados por vía intravenosa.

[0046] En algunas realizaciones, el paciente es portador de cáncer. En algunas realizaciones, el paciente posee tumor sólido metastático o local avanzado.

[0047] En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer cervical. En algunas realizaciones, el cáncer es un adenocarcinoma del cuello uterino, carcinoma adenoescamoso o carcinoma de células escamosas irresecable, metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el tumor sólido metastático o local avanzado es un adenocarcinoma del cuello uterino, carcinoma adenoescamoso o carcinoma de células escamosas irresecable, metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, no hay terapia estándar disponible para el cáncer (por ejemplo, cáncer cervical) o tumor sólido metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, cáncer cervical) o tumor sólido metastático o local avanzado es refractario a terapia

estándar. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, cáncer cervical) o tumor sólido metastático o local avanzado ha recaído luego de terapia estándar. En algunas realizaciones, la terapia estándar comprende quimioterapia que contiene platina. En algunas realizaciones, la terapia estándar es un doblete que contiene platina. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, cáncer cervical) es un adenocarcinoma del cuello uterino, carcinoma adenoescamoso o carcinoma de las células escamosas irresecable metastático ou local avanzado, que ha recaído luego de la administración de un doblete que contiene platina para tratamiento de enfermedad avanzada (recurrente, irresecable o metastática). En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, cáncer cervical) o tumor sólido metastático o local avanzado es HPV positivo. En algunas realizaciones, el cáncer o tumor sólido metastático o local avanzado es cáncer de la cabeza y del cuello, melanoma, carcinoma de células renales, carcinoma urotelial o carcinoma endometrial. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, cáncer cervical) o tumor sólido metastático o local avanzado es asociado a la inestabilidad microsatélite.

[0048] En ciertas realizaciones, el paciente tiene cáncer de cuello uterino (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas metastásico o localmente avanzado, irresecable, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino), y el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de un anticuerpo anti -PD-1 descrito en la presente descripción, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1 como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cáncer de cuello uterino (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas; o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en el que el anticuerpo anti-PD- 1 descrito en la presente descripción, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P) o una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1 se administra en la dosificación y en la frecuencia que se muestra en una sola fila de la Tabla 13 de este documento. En ciertas realizaciones, el paciente tiene cáncer de cuello uterino (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas metastásico o localmente avanzado, irresecable, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino), y el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en la presente descripción, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito aquí, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho

anticuerpo anti-PD-1 como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días: 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas, o 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en donde el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito aquí, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4, y el anticuerpo anti-PD-1 descrito aquí, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P) o la composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1, se administra en la dosificación y en la frecuencia que se muestra en una sola fila de la Tabla 13 de este documento. En ciertas realizaciones, el paciente tiene cáncer de cuello uterino (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas metastásico o localmente avanzado, irresecable, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino), y el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito aquí, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4 y (b) pembrolizumab o composición farmacéutica que comprende pembrolizumab como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico de cáncer cervical cáncer (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas; o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente donde el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito aquí, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4 se administra en la dosificación y a la frecuencia mostradas en una sola fila de la Tabla 13 en este documento, y pembrolizumab o composición que comprende p El embrolizumab se administra a 200 mg cada tres semanas.

[0049] En algunas realizaciones, el cáncer expresa PD-L1. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer que exhibe expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o

completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. La expresión de membrana de PD-L1 puede detectarse por cualquier método conocido en la técnica, tal como inmunohistoquímica. Ejemplos de ensayos inmunohistoquímicos para la detección de la expresión de membrana de PD-L1 en células de tumores son presentados en Hirsch et al (2017, *J. Thoracic Oncol.* 12 (2): 208-222), Rimm et al (2017, *JAMA Oncol.* 3 (8): 1051-1058) y Diggs y Hsueh (2017, *Biomarker Res.* 5: 12), que son integralmente incorporados al presente por referencia.

[0050] En algunas realizaciones, el tumor metastático o local avanzado expresa PD-L1. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. La expresión de membrana de PD-L1 puede detectarse por cualquier método conocido en la técnica, tal como inmunohistoquímica. Ejemplos de ensayos inmunohistoquímicos para la detección de la expresión de membrana de PD-L1 en células de tumores son presentados en Hirsch et al (2017, *J. Thoracic Oncol.* 12 (2): 208-222), Rimm et al (2017, *JAMA Oncol.* 3 (8): 1051-1058) y Diggs y Hsueh (2017, *Biomarker Res.* 5: 12), que son integralmente incorporados al presente por referencia.

[0051] En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). En algunas realizaciones, el NSCLC es NSCLC en la Etapa IV. En algunas realizaciones, el NSCLC es diagnosticado histológicamente o citológicamente, según la octava edición del manual de etapas del American Joint Committee on Cancer. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. En algunas realizaciones, el NSCLC no posee aberraciones de tumores genómicos ALK o EGFR. En algunas realizaciones, el NSCLC no posee mutación sensibilizante de EGFR (por ejemplo, una mutación que sea propensa a tratamiento con un inhibidor de la tirosina quinasa, que incluye erlotinib, gefitinib o afatinib) o translocación de ALK. En algunas realizaciones, el paciente no ha recibido tratamiento quimioterapéutico sistémico anterior para NSCLC.

[0052] En algunas realizaciones, el tumor sólido metastático o local avanzado es un NSCLC metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el tumor sólido metastático o local avanzado es un NSCLC metastático. En algunas realizaciones, el tumor sólido metastático o local avanzado es un NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el tumor sólido metastático o local avanzado es un NSCLC en la Etapa IV. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En

algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC metastático o local avanzado que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. En algunas realizaciones, el NSCLC metastático o local avanzado no posee aberraciones de tumores genómicos ALK o EGFR. En algunas realizaciones, el NSCLC metastático o local avanzado no posee mutación sensibilizante de EGFR (por ejemplo, una mutación que sea propensa a tratamiento con un inhibidor de la tirosina quinase, que incluye erlotinib, gefitinib o afatinib) o translocación de ALK. En algunas realizaciones, el paciente no ha recibido tratamiento quimioterapéutico sistémico anterior para NSCLC metastático o local avanzado.

[0053] En ciertas realizaciones, el paciente tiene NSCLC (por ejemplo, NSCLC en estadio IV, metastático o localmente avanzado), opcionalmente en el que el porcentaje de células tumorales en una muestra del NSCLC que exhibe expresión detectable (por ejemplo, expresión de membrana, parcial o expresión de membrana completa) de PD-L1 es al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%, y el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 descrito en este documento, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1 como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico de cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas, o 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en el que el anticuerpo anti-PD-1 descrito en la presente descripción, p. ej., AGEN2034 (IgG4 S228P) o una composición farmacéutica que comprende El anticuerpo PD-1 se administra a la dosis y a la frecuencia y se muestra en una sola fila de la Tabla 13 en este documento. En ciertas realizaciones, el paciente tiene NSCLC (por ejemplo, NSCLC en estadio

IV, metastásico o localmente avanzado), opcionalmente en el que el porcentaje de células tumorales en una muestra del NSCLC que exhibe expresión detectable (por ejemplo, expresión de membrana, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%, y el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en la presente descripción, p. Ej., AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito aquí, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1 como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días: 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas, o 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en donde el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito aquí, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4, y el anticuerpo anti-PD-1 descrito aquí, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P) o la composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1, se administra en la dosificación y en la frecuencia que se muestra en una sola fila de la Tabla 13 de este documento. En ciertas realizaciones, el paciente tiene NSCLC (por ejemplo, NSCLC en estadio IV, metastásico o localmente avanzado), opcionalmente en el que el porcentaje de células tumorales en una muestra del NSCLC que exhibe expresión detectable (por ejemplo, expresión de membrana, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%, y el método comprende administrar al paciente una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en la presente descripción, p. Ej., AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende anticuerpo anti-CTLA-4, y (b) pembrolizumab o composición farmacéutica que comprende pembrolizumab como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas, o 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en el que el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en este documento, p. Ej., AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica c la administración de tal anticuerpo anti-CTLA-4 se administra a la dosificación y a la frecuencia mostradas en una sola fila de la Tabla 13 de la presente, y se administra pembrolizumab o una composición farmacéutica que

comprende pembrolizumab a 200 mg cada tres semanas.

[0054] En ciertas realizaciones, el cáncer es un carcinoma de células escamosas cutáneo (cSCC) (por ejemplo, un cSCC en etapa IV). En ciertas realizaciones, el tumor sólido metastásico o localmente avanzado es un cSCC en etapa IV. En ciertas realizaciones, el cSCC se diagnostica histológicamente o citológicamente de acuerdo con la octava edición del manual de estadificación del American Joint Committee on Cancer. En ciertas realizaciones, el cSCC no es curable con radioterapia. En ciertas realizaciones, el paciente tiene cSCC (por ejemplo, cSCC en etapa IV), y el método comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-PD-1 descrito en la presente descripción, p. Ej., AGEN2034 (IgG4 S228P) o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1 como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cSCC (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas) o 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en el que el anticuerpo anti-PD-1 descrito en la presente descripción, p. ej., AGEN2034 (IgG4 S228P) o una composición farmacéutica que comprende dicho anti-PD -1 anticuerpo se administra a la dosificación y a la frecuencia mostrada en una sola fila de la Tabla 13 de este documento. En ciertas realizaciones, el paciente tiene cSCC (por ejemplo, cSCC en estadio IV), y el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en la presente descripción, p. Ej., AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito en este documento, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1 como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cSCC (por ejemplo, dentro de 1, 2 , 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas; o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en donde el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito aquí, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 descrito en la presente descripción, p. ej., AGEN2034 (IgG4 S228P) o composición farmacéutica que comprenden dicho anticuerpo anti-PD-1 se administran a la dosificación y a la frecuencia que se muestran en una única fila de la Tabla 13 de este documento. En ciertas realizaciones, el paciente tiene cSCC (por ejemplo, cSCC en estadio IV), y el método comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en la presente descripción, p.

Ej., AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) pembrolizumab o composición farmacéutica que comprende pembrolizumab como primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cSCC (por ejemplo, en 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8, o 12 semanas, o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico), opcionalmente en el que el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en este documento, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anti El anticuerpo -CTLA-4 se administra a la dosificación y a la frecuencia mostradas en una sola fila de la Tabla 13 de la presente, y se administra pembrolizumab o una composición farmacéutica que comprende pembrolizumab a 200 mg cada tres semanas.

[0055] En ciertas realizaciones, cualquiera de los anticuerpos y combinaciones terapéuticas descritos en este documento (por ejemplo, el primer y / o segundo anticuerpo aislado, o una combinación del primer anticuerpo y pembrolizumab) pueden ser administrados como primera terapia de cáncer luego del diagnóstico del tumor sólido metastático o local avanzado (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5, ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico). En algunas realizaciones, cualquiera de los anticuerpos y combinaciones terapéuticas descritos en este documento, por ejemplo el primero y el segundo anticuerpo aislado son administrados como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de la progresión de tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de la progresión del tumor) que haya ocurrido a pesar de tratamiento anterior del tumor con terapia de cáncer distinta, opcionalmente en que el anticuerpo aislado o combinación terapéutica es la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, cualquiera de los anticuerpos y combinaciones terapéuticas descritos en este documento, (por ejemplo el primero y/o el segundo anticuerpo aislado o una combinación del primer anticuerpo y pembrolizumab) es administrado como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta), opcionalmente en que el anticuerpo aislado o combinaciones terapéuticas descritos en este documento es la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el primero y el segundo anticuerpo aislado son administrados como primera terapia de cáncer en cerca de 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días luego del diagnóstico del tumor sólido metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el primero y

el segundo anticuerpo aislado son administrados como primera terapia de cáncer en cerca de 1 ó 2 semanas luego del diagnóstico del tumor sólido metastático o local avanzado.

[0056] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado se liga al mismo epítipo de CTLA-4 humano como anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 14.

[0057] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el segundo anticuerpo aislado se liga al mismo epítipo de PD-1 humano como anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 66 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74.

[0058] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado se liga al mismo epítipo de CTLA-4 humano como anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 1 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 14, en que el segundo anticuerpo aislado se liga al mismo epítipo de PD-1 humano de un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 66 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74.

[0059] En algunas realizaciones, el segundo anticuerpo aislado es antagonista para PD-1

humano.

[0060] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que:

- a. el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana; y/o
- b. el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[0061] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que:

- a. el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana; y/o
- b. el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[0062] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y un segundo anticuerpo

aislado que se liga específicamente a PD-1 humano, en que:

- a. el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana; y/o
- b. el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[0063] En otro aspecto, la presente invención suministra una composición farmacéutica que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;

X₂ es A o T; y

X₃ es T, S, R o N; y

- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:

X₁ es S o T; y

X₂ es W o F;

en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- g. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);

- h. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:

X₁ es Y o F;

X₂ es K o E; y

X₃ es K o M;

- i. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:

X₁ es G o V; y

X₂ es H o Y;

- j. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);

- k. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y

- l. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0064] En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36; 20, 22, 24, 29, 32 y 37; 20, 22, 24, 29, 33 y 38; 21, 22, 24, 27, 30 y 36; 21, 22, 24, 29, 33 y 38; 20, 22, 24, 28, 31 y 36; 20, 22, 24, 29, 34 y 36; 20, 22, 24, 29, 35 y 38; 21, 22, 26, 27, 30 y 36; 21, 22, 26, 29, 32 y 37; 21, 22, 26, 29, 33 y 38; ó 21, 22, 26, 29, 35 y 38, respectivamente, en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 75, 78, 81, 83, 84 y 85; ó 75, 79, 81, 83, 84 y 85,

respectivamente.

[0065] En algunas realizaciones de la composición farmacéutica, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente.

[0066] En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el primer anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;

X₂ es A o T; y

X₃ es T, S, R o N; y

f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:

X₁ es S o T; y

X₂ es W o F;

en que el segundo anticuerpo aislado comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

g. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);

h. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:

X₁ es Y o F;

X₂ es K o E; y

X₃ es K o M;

i. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:

X₁ es G o V; y

X₂ es H o Y;

j. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);

k. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y

l. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0067] En algunas realizaciones del kit, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36; 20, 22, 24, 29, 32 y 37; 20, 22, 24, 29, 33 y 38; 21, 22, 24, 27, 30 y 36; 21, 22, 24, 29, 33 y 38; 20, 22, 24, 28, 31 y 36; 20, 22, 24, 29, 34 y 36; 20, 22, 24, 29, 35 y 38; 21, 22, 26, 27, 30 y 36; 21, 22, 26, 29, 32 y 37; 21, 22, 26, 29, 33 y 38; ó 21, 22, 26, 29, 35 y 38, respectivamente, en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 75, 78, 81, 83, 84 y 85; ó 75, 79, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[0068] En algunas realizaciones del kit, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente.

[0069] En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente.

[0070] En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 67 y 74, respectivamente.

[0071] En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la cadena pesada y la cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59; ó 117 y 59, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 91 y 93; 92 y 93;

ó 120 y 93, respectivamente.

[0072] En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la cadena pesada y la cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 91 y 93, respectivamente.

[0073] En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la cadena pesada y la cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 92 y 93, respectivamente.

En otro aspecto, la presente invención suministra un kit que comprende un primer anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la cadena pesada y la cadena ligera del primer anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente, en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo aislado comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 120 y 93, respectivamente.

[0074] En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que:
X₁ es S o A; y
X₂ es N o S;
 - b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
 - c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
 - d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂Y LX₃ (SEQ ID N° 43), en que:
X₁ es S o G;
X₂ es R, S, o T; y
X₃ es G o A;
 - e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que:
X₁ es G o A;
X₂ es A o T; y
X₃ es T, S, R o N; y
 - f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que:
X₁ es S o T; y
X₂ es W o F;
- en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que:
- g. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
 - h. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que:
X₁ es Y o F;
X₂ es K o E; y
X₃ es K o M;

- i. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que:
X₁ es G o V; y
X₂ es H o Y;
- j. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- k. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- l. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[0075] En algunas realizaciones del anticuerpo multiespecífico, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de la primera región de ligación de antígeno comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36; 20, 22, 24, 29, 32 y 37; 20, 22, 24, 29, 33 y 38; 21, 22, 24, 27, 30 y 36; 21, 22, 24, 29, 33 y 38; 20, 22, 24, 28, 31 y 36; 20, 22, 24, 29, 34 y 36; 20, 22, 24, 29, 35 y 38; 21, 22, 26, 27, 30 y 36; 21, 22, 26, 29, 32 y 37; 21, 22, 26, 29, 33 y 38; ó 21, 22, 26, 29, 35 y 38, respectivamente, y en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de la segunda región de ligación de antígeno comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 75, 78, 81, 83, 84 y 85; ó 75, 79, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[0076] En algunas realizaciones del anticuerpo multiespecífico, la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la primera región de ligación de antígeno comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente, y en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la segunda región de ligación de antígeno comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente.

En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente, en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una región

variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente.

[0077] En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente, y en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 67 y 74, respectivamente.

[0078] En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59; ou 117 y 59, respectivamente, en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 91 y 93; 92 y 93; ó 120 y 93, respectivamente.

[0079] En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente, en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 91 y 93, respectivamente.

[0080] En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga

específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente, en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 92 y 93, respectivamente.

[0081] En otro aspecto, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente, en que la segunda región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 120 y 93, respectivamente.

[0082] Un anticuerpo multiespecífico comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 humano e una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 humano, en que:

- a. la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana; y/o
- b. la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana y, opcionalmente, una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[0083] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de ampliación o inducción de reacción inmune en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de un anticuerpo multiespecífico descrito en el presente.

[0084] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de un anticuerpo multiespecífico descrito en el presente.

[0085] En otro aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de

enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de un anticuerpo multiespecífico descrito en el presente.

[0086] En otro aspecto, la presente invención suministra una combinación terapéutica, un anticuerpo multiespecífico, un kit y/o una composición farmacéutica descrita en el presente para uso en el tratamiento de cáncer, tratamiento de enfermedades infecciosas, incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes.

[0087] En otro aspecto, la presente invención suministra una combinación terapéutica, un anticuerpo multiespecífico, un kit y/o una composición farmacéutica descrita en el presente para uso en la preparación de medicamentos para el tratamiento de cáncer, tratamiento de enfermedades infecciosas, incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes.

[0088] En otro aspecto, la presente invención suministra el uso de una combinación terapéutica, un anticuerpo multiespecífico, un kit y/o una composición farmacéutica descrita en el presente en la preparación de medicamentos para el tratamiento de cáncer, tratamiento de enfermedades infecciosas, incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes. La presente invención también suministra el uso de la combinación terapéutica o anticuerpo multiespecífico para preparar un kit y/o una composición farmacéutica para el tratamiento de cáncer, tratamiento de enfermedades infecciosas, incremento o inducción de reacción inmunológica en pacientes.

[0089] En algunas realizaciones de cualquier uno de los métodos, composiciones farmacéuticas, combinaciones terapéuticas o kits descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo se ha convertido en piroglutamato. En algunas realizaciones de cualquier uno de los métodos, composiciones farmacéuticas, combinaciones terapéuticas o kits descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo se ha convertido en piroglutamato. En algunas realizaciones de cualquier uno de los métodos, composiciones farmacéuticas, combinaciones terapéuticas o kits descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo se ha convertido en piroglutamato y el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo se ha convertido en piroglutamato.

[0090] En algunas realizaciones de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera de la primera región de ligación de antígeno se ha convertido en piroglutamato. En algunas realizaciones de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera de la segunda región de ligación de antígeno se ha convertido en piroglutamato. En algunas realizaciones de cualquiera de los anticuerpos multiespecíficos descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera de la primera región de ligación de antígeno se ha convertido en piroglutamato y el residuo de aminoácido N-terminal de la región variable de cadena pesada y/o la región variable de cadena ligera de la segunda región de ligación de antígeno se ha convertido en piroglutamato.

5. DESCRIPCION RESUMIDA DE LOS DIBUJOS

[0091] Las Figuras 1A y 1B son gráficos que exhiben la producción de IL-2 de PBMCs humanas primarias luego de la incubación con el superantígeno Enteroxina A de *Staphylococcus* (SEA) en la presencia de titulación de dosis de un anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₁) en combinación con 10 µg/ml de un anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P). Son exhibidos en las Figuras 1A y 1B los datos generados utilizando PBMCs de dos donantes distintos.

[0092] Las Figuras 2A y 2B son gráficos que exhiben la producción de IL-2 de PBMCs humanas primarias luego de la incubación con el superantígeno SEA en la presencia de titulación de dosis de un anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) en combinación con 20 µg/ml de un anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P). Son exhibidos en las Figuras 2A y 2B los datos generados utilizando PBMCs de dos donantes distintos.

[0093] La Figura 3 es una serie de gráficos que exhiben la producción de IL-2 por PBMCs humanas primarias luego de la incubación con el superantígeno SEA en la presencia de 10 µg/ml de un anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₁) en combinación con 10 µg/ml de un anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o un

anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P). Cada gráfico en la Figura 3 exhibe datos generados utilizando PBMCs de un donante distinto, según lo indicado. Los valores p calculados son exhibidos conforme sigue: ns = no significativo; * = p<0,05; ** = p<0,005.

[0094] La Figura 4 es una serie de gráficos que exhiben la producción de IL-2 por PBMCs humanas primarias luego de incubación con el superantígeno SEA en la presencia de 10 µg/ml de un anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₁) en combinación con 10 µg/ml de un anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P). Cada gráfico en la Figura 4 exhibe datos generados utilizando PBMCs de un donante distinto, según lo indicado. Los valores p calculados son exhibidos como ns = no significativo, * = p<0,05, ** = p<0,005.

[0095] Las Figuras 5A-5C son una serie de gráficos que exhiben el efecto de la combinación de anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) y anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) sobre la activación y proliferación de células T de memoria central en primatas no humanos. La Figura 5A exhibe una estrategia de portal y gráficos de citometría de flujo representativos para poblaciones de células T de PBMCs primarias aisladas de monos cynomolgus. En esta estrategia de portal, los linfocitos se han cerrado con base en dispersión lateral (SSC-A) vs. dispersión frontal (FSC-A), seguida por aislados (FSC-A vs. FSC-H). Células vivas han sido seleccionadas (SSC-A vs. tintura de amina NearIR) y, en seguida, se han seleccionado células B CD20⁺ y células T CD3⁺. Las poblaciones de células T se han definido conforme sigue: células T ingenuas CD4 (CD3⁺, CD4⁺, CD28⁺, CD95⁻), células T ingenuas CD8 (CD3⁺, CD8⁺, CD28⁺, CD95⁻), células T de memoria central CD4 (CD3⁺, CD4⁺, CD28⁺, CD95⁺), células T de memoria central CD8 (CD3⁺, CD8⁺, CD28⁺, CD95⁺), células T de memoria efectora CD4 (CD3⁺, CD4⁺, CD28⁻, CD95⁺) y células T de memoria efectora CD8 (CD3⁺, CD8⁺, CD28⁻, CD95⁺). Las Figuras 5B y 5C exhiben gráficos de citometría de flujo representativos para las frecuencias de células T de memoria central CD4⁺ Ki67⁺ (en proliferación) o ICOS⁺ (activadas), o células T de memoria central CD8⁺ Ki67⁺ (en proliferación) o ICOS⁺ (activadas).

[0096] Las Figuras 6A-6D son una serie de gráficos que exhiben la proliferación y activación de células T de memoria central elevadas en PBMCs de monos cynomolgus tres días después del tratamiento con AGEN1884 (IgG₁) y AGEN2034 (IgG₄ S228P), con relación a los niveles antes de la dosis (n = 4 animales, incluyendo el animal para el cual los gráficos de citometría de flujo

son exhibidos en la Figura 5). La frecuencia de cada una de las poblaciones de células T abajo se ha determinado por citometría de flujo: células T de memoria central CD4⁺ ICOS⁺ (Figura 6A); células T de memoria central CD4⁺ Ki67⁺ (Figura 6B); células T de memoria central CD8⁺ ICOS⁺ (Figura 6C); y células T de memoria central CD8⁺ Ki67⁺ (Figura 6D).

[0097] Las Figuras 7A, 7B y 7C son una serie de alineaciones de secuencias La Figura 7A es una alineación de secuencias para CTLA-4 humano (SEQ ID N° 65), CTLA-4 de mono cynomolgus (SEQ ID N° 108), CTLA-4 de ratas (SEQ ID N° 109) y CTLA-4 de ratones (SEQ ID N° 110). Los puntos representan residuos idénticos a residuos humanos correspondientes. “*” (asterisco) indica posiciones que poseen un solo residuo totalmente conservado. “:” (dos puntos) indica conservación entre grupos con propiedades con fuerte similaridad. “.” (punto) indica conservación entre grupos con propiedades con similaridad deficiente. Las Figuras 7B y 7C son alineaciones de secuencias para CTLA-4 humano (residuos 1-144 y 145-223 de SEQ ID N° 65, respectivamente), CTLA-4 de mono cynomolgus (residuos 1-144 y 145-223 de SEQ ID N° 108, respectivamente), CD28 humano (residuos 1-127 y 128-220 de SEQ ID N° 111, respectivamente), ICOS humano (residuos 1-124 y 125-199 de SEQ ID N° 112, respectivamente), BTLA humano (residuos 1-125 y 126-289 de SEQ ID N° 113, respectivamente) y PD-1 humano (residuos 1-143 y 144-288 de SEQ ID N° 96, respectivamente). Las dos regiones que exhiben fuerte reducción de absorción de deuterio mientras CTLA-4 humano era ligado a AGEN1884-Fab encuéntrase subrayadas en las Figuras 7A-C: residuos 80-82 (QVT, SEQ ID N° 102) y residuos 135-149 (YPPPYLIGIGNGTQI, SEQ ID N° 100), numerados según SEQ ID N° 65.

6. DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

[0098] La presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y/o PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y antagonizan la función de CTLA-4 y/o PD-1, por ejemplo, supresión inmunológica mediada por CTLA-4 y/o PD-1. También se suministran composiciones y kits farmacéuticos que comprenden dichos anticuerpos, ácidos nucleicos que codifican dichos anticuerpos, vectores de expresión y células hospedadoras para la producción de dichos anticuerpos y métodos de tratamiento de pacientes utilizando dichos anticuerpos. Los anticuerpos aquí descritos son particularmente útiles para incrementar la activación de células T en respuesta a antígenos (por ejemplo, antígenos de tumores o antígenos de enfermedades infecciosas) y así para tratamiento de cáncer en pacientes o tratamiento o

prevención de enfermedades infecciosas en pacientes.

[0099] Los técnicos apreciarán que un residuo de aminoácido glutamato (E) o glutamina (Q) en el terminal N de una región variable de cadena pesada y/o región variable de cadena ligera de cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente (por ejemplo, anticuerpo anti-PD-1, anticuerpo anti-CTLA4 o anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1) puede, bajo dadas condiciones, convertirse espontáneamente en piroglutamato por medio de ciclización post-traducción del grupo amino libre para formar una lactama. Consecuentemente, en dadas realizaciones de cada uno de los métodos, usos, composiciones farmacéuticas, anticuerpos multiespecíficos o kits descritos en el presente, el residuo de aminoácido N-terminal de una o más regiones variables de cadena pesada y/o regiones variables de cadena ligera de un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-CTLA-4 y/o un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 se ha convertido en piroglutamato (por ejemplo, como resultado de la ciclización post-traducción del grupo amino libre del residuo E o Q N-terminal).

6.1 Definiciones.

[00100] Según lo utilizado en el presente, las expresiones “cerca de” y “aproximadamente”, empleadas para modificar un valor numérico o rango numérico, indican que variaciones de 5% a 10% a más y 5% a 10% a menos del valor o rango permanecen incluidos en el significado pretendido del valor o rango indicado.

[00101] Según lo utilizado en el presente, el término “CTLA-4” designa la proteína asociada al linfocito T citotóxico 4. Según lo utilizado en el presente, la expresión “CTLA-4 humana” designa una proteína CTLA-4 humana codificada por un gene CTLA-4 humano del tipo salvaje, por ejemplo, el número de acceso GenBank® NM_005214.4 ó NM_001037631.2. Un ejemplo de secuencia de aminoácidos inmadura de CTLA-4 humano es suministrado como SEQ ID N° 65.

[00102] Según lo utilizado en el presente, el término “PD-1” designa la proteína de la muerte celular programada 1. Según lo utilizado en el presente, la expresión “PD-1 humano” designa una proteína PD-1 humana codificada por un gene PD-1 humano del tipo salvaje, por ejemplo, el número de acceso GenBank® NM_005018.2, XM_006712573.2 ó XM_017004293.1. Un ejemplo de secuencia de aminoácidos inmadura de PD-1 humano es suministrado como SEQ ID N° 96.

[00103] Según lo utilizado en el presente, los términos “anticuerpo” y “anticuerpos” incluyen

anticuerpos con longitud total, fragmentos de ligación de antígenos de anticuerpos con longitud total y moléculas que comprenden CDRs, regiones VH o regiones VL de anticuerpos. Ejemplos de anticuerpos incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos producidos en condiciones recombinantes, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (incluyendo anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, inmunoglobulinas, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetraméricos que comprenden dos moléculas de cadena pesada y dos de cadena ligera, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, un par de cadena ligera de anticuerpo y cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos monovalentes, anticuerpos con una sola cadena o Fvs con una sola cadena (scFv), anticuerpos camelizados, aficuerpos, fragmentos de Fab, fragmentos de F(ab')₂, Fvs ligados por disulfuro (sdFv), anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos anti-anti-Id) y fragmentos de ligación de antígenos de cualesquiera de los arriba. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente designan poblaciones de anticuerpos policlonales. Los anticuerpos pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ ó IgA₂), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG_{2a} o IgG_{2b}) de molécula de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente son anticuerpos IgG o una de sus clases (por ejemplo, IgG₁ ó IgG₄ humano) o subclases. En una realización específica, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humanizado. En otra realización específica, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal humano.

[00104] Los anticuerpos “multiespecíficos” son anticuerpos con al menos dos locales de ligación de antígenos distintos. Los anticuerpos multiespecíficos incluyen anticuerpos biespecíficos que contienen dos locales de ligación de antígenos distintos (excluyendo la región Fc). Ejemplos de anticuerpos multiespecíficos incluyen anticuerpos producidos en condiciones recombinantes, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, inmunoglobulinas, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetraméricos que comprenden dos moléculas de cadena pesada y dos de cadena ligera, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo, un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, un par de cadena ligera de anticuerpo y

cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, anticuerpos heteroconjugados, conjugados de droga y anticuerpo, anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos monovalentes, anticuerpos de una sola cadena o Fvs de una sola cadena (scFv), anticuerpos camelizados, anticuerpos, fragmentos de Fab, fragmentos de F(ab')₂, Fvs ligados por disulfuro (sdFv), anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos anti-anti-Id) y fragmentos de ligación de antígenos de cualesquiera de los arriba. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser de cualquier tipo (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY), cualquier clase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 ó IgA2), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG2a o IgG2b) de molécula de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, los anticuerpos multiespecíficos descritos en el presente son anticuerpos IgG o una de sus clases (por ejemplo, IgG1 ó IgG4 humano) o subclases.

[00105] Según lo utilizado en el presente, la expresión anticuerpo “anti-CTLA-4/PD-1” designa un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, un anticuerpo biespecífico) que contiene una región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano).

[00106] Según lo utilizado en el presente, la expresión “CDR” o “región de determinación de la complementariedad” indica los locales de combinación de antígenos no contiguos encontrados en la región variable de polipéptidos de cadena ligera y pesada. Estas regiones específicas se han descrito por Kabat et al, *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977) y Kabat et al, *Sequences of protein of immunological interest* (1991), Chothia et al, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987) y MacCallum et al, *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996), todos los cuales son integralmente incorporados por referencia, en que las definiciones incluyen sobreposiciones o subconjuntos de residuos de aminoácidos en comparación entre sí. CDRH1, CDRH2 y CDRH3 indican los CDRs de cadena pesada, mientras CDRL1, CDRL2 y CDRL3 indican los CDRs de cadena ligera.

[00107] Según lo utilizado en el presente, la expresión “residuos de aminoácidos de cadena principal (FR)” designa los aminoácidos en la región de la cadena principal de una cadena de inmunoglobulina. La expresión “región de cadena principal” o “región FR”, según lo utilizado en el presente, incluye los residuos de aminoácidos que hacen parte de la región variable, pero no son parte de las CDRs (por ejemplo, utilizando la definición de Kabat o MacCallum de CDRs).

[00108] Según lo utilizado en el presente, las expresiones “región variable” y “dominio

variable” se utilizan de forma intercambiable y son comunes en la materia. La región variable se refiere típicamente a una parte de un anticuerpo, normalmente una parte de una cadena ligera o pesada, típicamente cerca de los 110 a 120 aminoácidos ó 110 a 125 aminoácidos amino-terminales en la cadena pesada madura y cerca de 90 a 115 aminoácidos en la cadena ligera madura, cuyas secuencias son extensamente distintas entre los anticuerpos y son utilizadas en la ligación y especificidad de un anticuerpo específico para su antígeno específico. La variabilidad de secuencia se concentra en las regiones denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDRs), mientras las regiones con conservación más alta en la región variable son denominadas regiones de cadena principal (FR). Sin desear restricciones a ningún mecanismo o teoría específica, se cree que las CDRs de las cadenas ligeras y pesadas son principalmente responsables por la interacción y especificidad del anticuerpo con antígeno. En algunas realizaciones, la región variable es una región variable humana. En algunas realizaciones, la región variable comprende CDRs murinas o de roedores y regiones de cadena principal (FRs) humanas. En realizaciones específicas, la región variable es una región variable de primatas (por ejemplo, primatas no humanos). En algunas realizaciones, la región variable comprende CDRs murinas o de roedores y regiones de cadena principal (FRs) de primatas (por ejemplo, primatas no humanos).

[00109] Las expresiones “VL” y “dominio VL” se utilizan en forma intercambiable para designar la región variable de cadena ligera de un anticuerpo.

[00110] Las expresiones “VH” y “dominio VH” se utilizan en forma intercambiable para designar la región variable de cadena pesada de un anticuerpo.

[00111] Según lo utilizado en el presente, las expresiones “región constante” y “dominio constante” se utilizan de forma intercambiable y son comunes en la materia. La región constante es una parte de anticuerpo, por ejemplo, una parte con terminal carboxila de una cadena ligera y/o pesada que no participa directamente de la ligación de un anticuerpo a un antígeno, pero puede exhibir varias funciones efectoras, tales como la interacción con el receptor Fc. La región constante de una molécula de inmunoglobulina generalmente posee una secuencia de aminoácidos más conservada con relación a una región variable de inmunoglobulina.

[00112] Según lo utilizado en el presente, la expresión “cadena pesada”, al utilizarse con referencia a un anticuerpo, puede referir-se a cualquier tipo distinto, como alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gama (γ) y mu (μ), con base en la secuencia de aminoácidos del dominio constante,

que genera las clases IgA, IgD, IgE, IgG e IgM de anticuerpos, respectivamente, incluyendo las subclases de IgG, como, por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄.

[00113] Según lo utilizado en el presente, la expresión “cadena ligera, al utilizarse con referencia a un anticuerpo, puede designar cualquier tipo distinto, por ejemplo, capa (κ) o lambda (λ), con base en la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes. Las secuencias de aminoácidos de cadena ligera son bien conocidas en la materia. En realizaciones específicas, la cadena ligera es una cadena ligera humana.

[00114] La expresión “numeración de Kabat” y términos similares son reconocidos en la técnica y designan un sistema de numeración de residuos de aminoácidos en las regiones variables de cadena pesada y ligera de anticuerpos, o sus partes de ligación de antígenos. En algunos aspectos, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el sistema de numeración de Kabat (véase, por ejemplo, Kabat, E. A. y Wu, T. T. (1971), *Ann. NY Acad. Sci.* 190: 382-391 y Kabat, E. A. et al (1991), *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, Departamento de la Salud y de los Servicios Humanos de los Estados Unidos, Publicación NIH n° 91-3242, todos los cuales incorporados integralmente al presente por referencia). Utilizando el sistema de numeración de Kabat, las CDRs en una molécula de cadena pesada de anticuerpo están típicamente presentes en las posiciones de aminoácidos 31 a 35, que pueden opcionalmente incluir uno o dos aminoácidos adicionales, siguiendo 35 (indicado en el esquema de numeración de Kabat como 35A y 35B) (CDR1), las posiciones de aminoácidos 50 a 65 (CDR2) y las posiciones de aminoácidos 95 a 102 (CDR3). Utilizando el sistema de numeración de Kabat, CDRs en una molécula de cadena ligera de anticuerpo están típicamente presentes en las posiciones de aminoácidos 24 a 34 (CDR1), posiciones de aminoácidos 50 a 56 (CDR2) y posiciones de aminoácidos 89 a 97 (CDR3). En una realización específica, las CDRs de los anticuerpos descritos en el presente se han determinado según el esquema de numeración de Kabat.

[00115] Según lo utilizado en el presente, las expresiones “región constante” y “dominio constante” son intercambiables y poseen su significado común en la materia. La región constante es una parte de anticuerpo, por ejemplo, una parte con terminal carboxila de una cadena ligera y/o pesada que no participa directamente de la ligación de un anticuerpo a un antígeno, pero puede exhibir varias funciones efectoras, como la interacción con el receptor Fc. La región constante de una molécula de inmunoglobulina generalmente posee una secuencia de

aminoácidos más conservada con relación a una región variable de inmunoglobulina.

[00116] Según lo utilizado en el presente, la expresión “cadena pesada”, al utilizarse con referencia a un anticuerpo, puede referir-se a cualquier tipo distinto, como alfa (α), delta (δ), épsilon (ϵ), gama (γ) y mu (μ), con base en la secuencia de aminoácidos del dominio constante, que genera las clases IgA, IgD, IgE, IgG e IgM de anticuerpos, respectivamente, incluyendo las subclases de IgG, como, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

[00117] Según lo utilizado en el presente, la expresión “cadena ligera”, al utilizarse con referencia a un anticuerpo, puede designar cualquier tipo distinto, por ejemplo, kappa (κ) o lambda (λ), con base en la secuencia de aminoácidos de los dominios constantes. Las secuencias de aminoácidos de cadena ligera son bien conocidas en la técnica. En realizaciones específicas, la cadena ligera es una cadena ligera humana.

[00118] Según lo utilizado en el presente, la expresión “sistema de numeración UE” designa la convención de numeración de la UE para las regiones constantes de anticuerpos, según lo descrito en Edelman, G. M. et al, *Proc. Natl. Acad. U. S. A.* 63, 78-85 (1969) y Kabat et al, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Departamento de la Salud y de los Servicios Humanos, quinta edición, 1991.

[00119] “Afinidad de ligación” designa, en forma general, la resistencia de la suma total de interacciones no covalentes entre un solo local de ligación de una molécula (por ejemplo, un anticuerpo) y su partero de ligación (por ejemplo, un antígeno). A menos que indicado en contrario, según lo utilizado en el presente, “afinidad de ligación” designa la afinidad de ligación intrínseca que indica interacción 1:1 entre los miembros de un par de ligación (por ejemplo, anticuerpo y antígeno). La afinidad de una molécula X por su partero Y puede normalmente representarse por la constante de disociación (K_D). La afinidad puede mensurarse y/o expresarse en una serie de formas conocidas en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, la constante de disociación de equilibrio (K_D) y la constante de asociación de equilibrio (K_A). El K_D se calcula desde el cociente de k_{off}/k_{on} , mientras K_A es calculado desde el cociente de k_{on}/k_{off} . k_{on} designa la constante de velocidad de asociación, por ejemplo, de un anticuerpo a un antígeno y k_{off} designa la disociación, por ejemplo, de un anticuerpo a un antígeno. k_{on} y k_{off} pueden determinarse por medio de métodos conocidos de los expertos comunes en la materia, como BIAcore[®] o KinExA.

[00120] Según lo utilizado en el presente, las expresiones “ligarse específicamente”, “reconocer específicamente”, “ligarse inmunoespecíficamente” y “reconocer

inmunoespecíficamente” son expresiones análogas en el contexto de los anticuerpos y designan moléculas que se ligan a un antígeno (por ejemplo, epítipo o complejo inmune), en la forma en que dicha ligación es comprendida por los expertos en la materia. Una molécula que se liga específicamente a un antígeno, por ejemplo, puede ligarse a otros péptidos o polipéptidos, normalmente con afinidad más baja, según lo determinado, por ejemplo, por inmunoensayos, BIAcore®, instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise ID) u otros ensayos conocidos en la materia. En una realización específica, las moléculas que se ligan específicamente a un antígeno se ligan al antígeno con K_A que es al menos 2 logs, 2,5 logs, 3 logs, 4 logs o más que el K_A cuando las moléculas se ligan no específicamente a otro antígeno.

[00121] En otra realización, las moléculas que se ligan específicamente a un antígeno no presentan reacción cruzada con otras proteínas bajo condiciones de ligación similares. En una realización específica, un anticuerpo anti-CTLA-4, anticuerpo anti-PD-1 y un anticuerpo anti-CTLA-4/anti-PD1 no presentan reacción cruzada con otras proteínas anti-CTLA-4, proteínas no PD-1 y proteínas no CTLA-4 y no PD-1, respectivamente. En una realización específica, se suministra en el presente un anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y/o PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) con más afinidad que a otro antígeno no relacionado. En algunas realizaciones, se suministra en el presente un anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano y/o PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) con afinidad 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o más alta que otro antígeno no relacionado, según lo medido, por ejemplo, por radioinmunoensayo, resonancia de plasma de superficie o ensayo de exclusión cinética. En una realización específica, la exención de ligación de un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente a una proteína no CTLA-4 no relacionada es de menos de 10%, 15% ó 20% de la ligación del anticuerpo a proteína CTLA-4, según lo medido, por ejemplo, por un radioinmunoensayo. En otra realización específica, la exención de ligación de un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente a una proteína no PD-1 no relacionada es de menos de 10%, 15% ó 20% de la ligación del anticuerpo a la proteína PD-1, según lo medido, por ejemplo, por un radioinmunoensayo. En otra realización específica, la exención de ligación de un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente a una proteína no CTLA-4 y no PD-1 no relacionada es de menos de 10%, 15% ó 20% de la ligación del anticuerpo a la proteína CTLA-4 y/o PD-1, según lo medido, por ejemplo, por un radioinmunoensayo.

[00122] Según lo utilizado en el presente, la expresión “afucosilación” o “afucosilado”, en el contexto de Fc, designa falta substancial de fucosa covalentemente ligada, directa o indirectamente, al residuo 297 de la región Fc de IgG₁ humano, numerada según el índice UE (Kabat et al, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, Servicio Público de Salud, Instituto Nacional de la Salud, Bethesda MD (1991)) o el residuo correspondiente en inmunoglobulinas no de IgG₁ o IgG₁ no humanas. Así, en una composición que comprende una serie de anticuerpos afucosilados, por lo menos 70% de los anticuerpos no serán fucosilados, directa o indirectamente (por ejemplo, por azúcares intervinientes en el residuo 297 de la región Fc de los anticuerpos y, en algunas realizaciones, al menos 80%, 85%, 90%, 95% ó 99% no serán fucosilados, directa o indirectamente, en el residuo 297 de la región Fc.

[00123] Según lo utilizado en el presente, “epítopo” es un término de la técnica y designa una región localizada de un antígeno al cual puede ligarse específicamente un anticuerpo. Un epítopo puede ser, por ejemplo, aminoácidos contiguos de un polipéptido (epítopo linear o contiguo) o un epítopo puede, por ejemplo, venir de dos o más regiones no contiguas de uno o más polipéptidos (epítopo de conformación, no linear, discontinuo o no contiguo). En algunas realizaciones, el epítopo al cual se liga un anticuerpo puede determinarse, por ejemplo, por espectroscopia de NMR, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos ELISA, intercambio de hidrógeno y deuterio acoplado a la espectrometría de masa (por ejemplo, espectrometría de masa por electropulverización de cromatografía de líquidos), ensayos de escaneo de oligopéptidos con base en conjuntos y/o mapeo de mutagénesis (por ejemplo, mapeo de mutagénesis dirigida a local). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización puede realizarse utilizando cualquiera de los métodos conocidos en la materia (por ejemplo, Giegé, R. et al (1994), *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 50 (Parte 4): 339-350; McPherson, A. (1990), *Eur. J. Biochem.* 189: 1-23; Chayen, N. E. (1997), *Structure* 5: 1269-1274; McPherson, A. (1976), *J. Biol. Chem.* 251: 6300-6303), *Antibody: antigen crystals may be studied using well known X-ray diffraction techniques and may be refined using computer software such as X-PLOR* (Universidad de Yale, 1992, distribuido por Molecular Simulations, Inc.; véase, por ejemplo, *Meth. Enzymol.* (1985), vols. 114 y 115, eds. Wyckoff, H. W. et al; US 2004/0014194); y BUSTER (Bricogne, G. (1993), *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 49 (Parte 1): 37-60; Bricogne, G. (1997), *Meth. Enzymol.* 276A: 361-423, ed. Carter, C. W.; Roversi, P. et al (2000), *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 56 (Parte 10): 1316-1323). Los estudios de mapeo de mutagénesis pueden realizarse utilizando

cualquier método conocido por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Champe, M. et al (1995), *J. Biol. Chem.* 270: 1388-1394 y Cunningham, B. C. & Wells, J. A. (1989), *Science* 244: 1081-1085, para la descripción de métodos de mutagénesis, incluyendo los métodos de mutagénesis por escaneo de alanina. En una realización específica, el epítipo de un anticuerpo es determinado utilizando estudios de mutagénesis por escaneo de alanina.

[00124] Según lo utilizado en el presente, los términos “tratar”, “tratando” y “tratamiento” designan medidas terapéuticas o preventivas descritas en el presente. Los métodos de “tratamiento” emplean la administración de anticuerpos a pacientes portadores de una enfermedad o afección, o previamente dispuestos a poseer dicha enfermedad o afección, para evitar, curar, retardar, reducir la severidad o mejorar uno o más síntomas de la enfermedad o afección, o enfermedad o afección recurrente, o para prolongar la sobrevivencia de pacientes más allá de lo esperado en la ausencia de dicho tratamiento.

[00125] Según lo utilizado en el presente, la expresión “combinación terapéutica” designa la combinación de una primera terapia y de la segunda terapia administrada a un paciente. La primera terapia y la segunda terapia pueden administrarse simultáneamente (en la misma composición farmacéutica o en composiciones farmacéuticas separadas) o secuencialmente en cualquier orden.

[00126] Según lo utilizado en el presente, la expresión “cantidad eficaz”, en el contexto de la administración de terapia a pacientes, designa la cantidad de terapia que alcanza un efecto profiláctico o terapéutico deseado. La cantidad eficaz de una combinación terapéutica de una primera terapia y una segunda terapia incluye una primera cantidad de la primera terapia y una segunda cantidad de la segunda terapia, en que la administración de la combinación terapéutica alcanza un efecto terapéutico o profiláctico deseado.

[00127] Según lo utilizado en el presente con relación a la reacción de cáncer a la terapia, los términos “refractario” y “resistente” poseen su significado reconocido en la materia y se utilizan en forma intercambiable.

[00128] Según lo utilizado en el presente, el término “paciente” incluye cualquier animal humano o no humano.

[00129] Según lo utilizado en el presente, la expresión “célula hospedadora” puede ser cualquier clase de célula, por ejemplo, una célula primaria, una célula en cultivo o una célula de una línea celular. En realizaciones específicas, la expresión “célula hospedadora” designa una

célula transfectada con una molécula de ácido nucleico y su descendencia o descendencia potencial de dicha célula. La descendencia de dicha célula no es necesariamente idéntica a la célula parental transfectada con la molécula de ácido nucleico, por ejemplo, debido a mutaciones o influencias ambientales que pueden ocurrir en generaciones sucesivas o la integración de la molécula de ácido nucleico en el genoma de la célula hospedadora.

[00130] La determinación de “porcentaje de identidad” entre dos secuencias (por ejemplo, secuencias de aminoácidos o secuencias de ácidos nucleicos) puede también realizarse utilizando un algoritmo matemático. Un ejemplo específico no limitador de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de dos secuencias es el algoritmo de Karlin, S. y Altschul, S. F. (1990), *PNAS* 87: 2264-2268, alterado como en Karlin, S. y Altschul, S. F. (1993), *PNAS* 90: 5873-5877. Ese algoritmo es incorporado a los programas NBLAST y XBLAST de Altschul, S. F. et al (1990), *J. Mol. Biol.* 215: 403. Pueden realizarse búsquedas de nucleótidos BLAST con los parámetros definidos por el programa de nucleótidos NBLAST, por ejemplo, para evaluación = 100, longitud de la palabra = 12, para obtener secuencias de nucleótidos homólogas a las moléculas de ácido nucleico descritas en el presente. Pueden realizarse búsquedas de proteínas BLAST con los parámetros definidos por el programa XBLAST, por ejemplo, para evaluación = 50, longitud de la palabra = 3, para obtener secuencias de aminoácidos homólogas a las moléculas de proteínas descritas en el presente. Para obtener alineaciones en espacios para fines de comparación, BLAST en espacios puede utilizarse según lo descrito en Altschul, S. F. et al (1997), *Nucl. Acids Res.* 25: 3389-3402. Alternativamente, PSI BLAST puede utilizarse para realizar una búsqueda iterada para detectar relaciones distantes entre las moléculas (*Id.*). Al utilizarse los programas BLAST, BLAST con espacios y PSI BLAST, los parámetros estándar de los programas correspondientes (por ejemplo, de XBLAST y NBLAST) pueden utilizarse (véase, por ejemplo, el National Center for Biotechnology Information (NCBI) en worldwide web, ncbi.nlm.nih.gov). Otro ejemplo no limitador específico de un algoritmo matemático utilizado para la comparación de secuencias es el algoritmo de Myers y Miller, 1988, *CABIOS* 4: 11-17. Dicho algoritmo es incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), que es una parte del paquete de software de alineación de secuencias GCG. Al utilizarse el programa ALIGN para la comparación de secuencias de aminoácidos, una tabla de residuos de peso PAM120, penalidad de longitud de espacio de 12 y penalidad de espacio de 4 pueden utilizarse. El porcentaje de identidad entre dos secuencias puede determinarse utilizando métodos similares a los descritos

arriba, con y sin la permisión de espacios. Al calcularse el porcentaje de identidad, típicamente solo se cuentan las coincidencias exactas.

[00131] Según lo utilizado en el presente, el término “internalización” o “internalizado” designa la absorción de un anticuerpo en un compartimiento intracelular de una célula, por medio de ligación del anticuerpo a un antígeno expresado en la superficie de la célula.

6.2 Anticuerpos:

6.2.1 Anticuerpos anti-CTLA-4:

[00132] En un aspecto, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y antagonizan la función de CTLA-4. También se suministran en el presente anticuerpos multiespecíficos que comprenden una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 humano (por ejemplo, CTLA-4 humano) y, opcionalmente, una segunda región de ligación de antígeno que no se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano). Las secuencias de aminoácidos de ejemplos de anticuerpos son descritas en las Tablas 1 a 5 del presente.

Tabla 1. Secuencias de aminoácidos de ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4*:

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
1	AGEN1884 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSS
9	BADD412-2356 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLVWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSS
10	BADD412-2357 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSS
11	BADD412-2358 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSS
12	BADD412-2359 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAP GKGLVWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFNIWGQGTMTVTVSS
13	BADD412-2360 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSS
14	AGEN1884 VL	EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSRYLGWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPED FAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
15	BADD412-2367 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGYTLAWYQHKVG QAPRLLIYGASRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
16	BADD412-2382 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPSLLIYATSSRATGIPDRFSGSVSGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQYGTSPWTFGQGTKVEIK
17	BADD412-2384 VL	EIVLTQSPATLSFSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTFTISRLEPED FAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
18	BADD412-2390 VL	EIVLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYAASTRATGIPDRFSGSASGTDFTLTISRLEPED FAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
19	BADD412-2393 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPED FAVYYCQQYGSSPFTFGPGTKVDIK
20	CDRH1	YSYMN
21	CDRH1	SYAMS
22	CDRH2	SISSSSSYIYYADSVKG
24	CDRH3	VGLMGPFDI
26	CDRH3	VGLMGPFNI
27	CDRL1	RASQSVSRYL
28	CDRL1	RASQSVGYLA
29	CDRL1	RASQSVSSYLA
30	CDRL2	GASTRAT
31	CDRL2	GASRRAT
32	CDRL2	ATSSRAT
33	CDRL2	GASSRAT
34	CDRL2	AASTRAT
35	CDRL2	GASNRAT
36	CDRL3	QQYGSSPWT
37	CDRL3	QQYGTSPWT
38	CDRL3	QQYGSSPFT
39	secuencia de consenso de CDRH1	SYX ₁ MX ₂ , en que X ₁ es S o A; y X ₂ es N o S
115	secuencia de consenso 1 de CDRH3	VGLMGPFXI, en que X es D o N
43	secuencia de consenso de CDRL1	RASQSVX ₁ X ₂ YLX ₃ , en que X ₁ es S o G; X ₂ es R, S, o T; y X ₃ es G o A
44	secuencia de consenso de CDRL2	X ₁ X ₂ SX ₃ RAT, en que X ₁ es G o A; X ₂ es A o T; y X ₃ es T, S, R, o N
45	secuencia de consenso de CDRL3	QQYGX ₁ SPX ₂ T, en que X ₁ es S o T; y X ₂ es W o F

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
116	secuencia de consenso de VH	EVQLX ₁ ESGGGLVX ₂ PGGSLX ₃ LSCAASGFTFSSYX ₄ MX ₅ WVRQAPGKGLX ₆ WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAX ₇ LYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPF ₈ IWGQGTMTVSS , en que X ₁ es V o L; X ₂ es K o Q; X ₃ es R o T; X ₄ es S o A; X ₅ es N o S; X ₆ es E o V; X ₇ es S o T; y X ₈ es D o N
47	secuencia de consenso VL	EIVLTQSPX ₁ TLX ₂ SPGERATLSCRASQSVX ₃ X ₄ YLX ₅ WYQX ₆ KX ₇ GQAPX ₈ LLIYX ₉ X ₁₀ SX ₁₁ RATGIPX ₁₂ RFSGSX ₁₃ SGTDFTX ₁₄ TIX ₁₅ X ₁₆ LEPEDFAVYYCQQYGX ₁₇ SPX ₁₈ TFGX ₁₉ GTKVX ₂₀ IK, en que X ₁ es G o A; X ₂ es L, V, o F; X ₃ es S o G; X ₄ es R, T, o S; X ₅ es G o A; X ₆ es Q o H; X ₇ es P o V; X ₈ es R o S; X ₉ es G o A; X ₁₀ es A o T; X ₁₁ es T, R, S, o N; X ₁₂ es D o A; X ₁₃ es G, V, o A; X ₁₄ es L o F; X ₁₅ es T o S; X ₁₆ es R o S; X ₁₇ es S o T; X ₁₈ es W o F; X ₁₉ es Q o P; y X ₂₀ es E o D
48	Secuencia de la línea germinal: IGHV3-21*01	EVQLVESGGGLVKGPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAXNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
49	Secuencia de la línea germinal: IGKV3-20*01	EIVLTQSPGTLTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP
50	Secuencia de la línea germinal: IGKV3-11*01	EIVLTQSPATLTLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPP

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
51	Cadena pesada de AGEN1884 (IgG1)	EVQLVESGGGLVHPGGSRLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
52	Cadena pesada de AGEN1884 (IgG1 S239D/I332E)	EVQLVESGGGLVHPGGSRLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
53	Cadena pesada de AGEN1884 (IgG1 S239D/A330L/I332E)	EVQLVESGGGLVHPGGSRLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPDVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
54	Cadena pesada de AGEN1884 (IgG1 L235V/F243L/R292P/Y300L/P396L)	EVQLVESGGGLVHPGGSRLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAAAGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELVGGPSVFLFLPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPPEEQYNSTLRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPLVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
117	Cadena pesada de AGEN2041 (IgG2)	EVQLVESGGGLVKGPGGSLRLSCAASGFTTFSSYSMNWVRQAP GKGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARVGLMGPFDIWGQGTMTVTVSSASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDH KPSNTKVDKTVKCCVECPKPPAPPVAGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTFRVVSFLTTLVHVDLNGKEYKCKVSNKGLPAP IEKTIISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
59	Cadena ligera de AGEN1884	EIVLTQSPGTLSTLSPGERATLSCRASQSVSRYLGWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTITRLEPED FAVYYCQQYGSSPWTFTGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC
60	IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPKPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLNKGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
61	IgG1 S239D/I332E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPKPAPELLGGPDV FLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLNKGKEYKCK VSNKALPAPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G
62	IgG1 S239D/A330L/I332E	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPKPAPELLGGPDV FLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDLNKGKEYKCK VSNKALPLPEEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
63	IgG1 L235V/F243L/R292P/Y 300L/P396L	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELVGGPSV FLLPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTLRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPLVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSP G
118	IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYT CNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPLMLSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
64	Región constante de cadena ligera	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

* Las CDRs se definen según el sistema de numeración de Kabat.

Tabla 2. Secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada de ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4*:

VH (SEQ ID N°)	CDRH1 (SEQ ID N°)	CDRH2 (SEQ ID N°)	CDRH3 (SEQ ID N°)
AGEN1884 VH (1)	SYSMN (20)	SISSSSSYIYYADSVK G (22)	VGLMGPFDI (24)
BADD412-2356 VH (9)	SYAMS (21)	SISSSSSYIYYADSVK G (22)	VGLMGPFDI (24)
BADD412-2357 VH (10)	SYSMN (20)	SISSSSSYIYYADSVK G (22)	VGLMGPFDI (24)
BADD412-2358 VH (11)	SYSMN (20)	SISSSSSYIYYADSVK G (22)	VGLMGPFDI (24)
BADD412-2359 VH (12)	SYAMS (21)	SISSSSSYIYYADSVK G (22)	VGLMGPFNI (26)
BADD412-2360 VH (13)	SYSMN (20)	SISSSSSYIYYADSVK G (22)	VGLMGPFDI (24)

* Definido según el sistema de numeración de Kabat.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos de CDR de cadena ligera de ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4*:

VL (SEQ ID N°)	CDRL1 (SEQ ID N°)	CDRL2 (SEQ ID N°)	CDRL3 (SEQ ID N°)
-------------------	----------------------	----------------------	----------------------

VL (SEQ ID N°)	CDRL1 (SEQ ID N°)	CDRL2 (SEQ ID N°)	CDRL3 (SEQ ID N°)
AGEN1884 VL (14)	RASQSVSRYL (27)	GASTRAT (30)	QQYGSSPWT (36)
BADD412-2367 VL (15)	RASQSVGYLA (28)	GASRRAT (31)	QQYGSSPWT (36)
BADD412-2382 VL (16)	RASQSVSSYLA (29)	ATSSRAT (32)	QQYGTSPWT (37)
BADD412-2384 VL (17)	RASQSVSSYLA (29)	GASSRAT (33)	QQYGSSPFT (38)
BADD412-2390 VL (18)	RASQSVSSYLA (29)	AASTRAT (34)	QQYGSSPWT (36)
BADD412-2393 VL (19)	RASQSVSSYLA (29)	GASNRAT (35)	QQYGSSPFT (38)

* Definido según el sistema de numeración de Kabat.

Tabla 4. Ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4:

Anticuerpo	Región variable de cadena pesada	SEQ ID N°	Región variable de cadena ligera	SEQ ID N°
AGEN1884	AGEN1884 VH	1	AGEN1884 VL	14
AGEN1885	AGEN1884 VH	1	BADD412-2382 VL	16
AGEN1886	AGEN1884 VH	1	BADD412-2384 VL	17
AGEN1887	BADD412-2356 VH	9	AGEN1884 VL	14
AGEN1888	BADD412-2356 VH	9	BADD412-2384 VL	17
AGEN1889	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2367 VL	15
AGEN1890	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2384 VL	17
AGEN1891	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2390 VL	18
AGEN1892	BADD412-2357 VH	10	BADD412-2393 VL	19
AGEN1893	BADD412-2358 VH	11	BADD412-2367 VL	15
AGEN1894	BADD412-2358 VH	11	AGEN1884 VL	14
AGEN1895	BADD412-2358 VH	11	BADD412-2382 VL	16
AGEN1896	BADD412-2358 VH	11	BADD412-2384 VL	17
AGEN1897	BADD412-2359 VH	12	AGEN1884 VL	14
AGEN1898	BADD412-2359 VH	12	BADD412-2382 VL	16
AGEN1899	BADD412-2359 VH	12	BADD412-2384 VL	17
AGEN1900	BADD412-2359 VH	12	BADD412-2393 VL	19
AGEN1901	BADD412-2360 VH	13	BADD412-2367 VL	15
AGEN1902	BADD412-2360 VH	13	BADD412-2384 VL	17

Tabla 5. Ejemplos de secuencias de CTLA-4:

SEQ ID N°	Descripción *	Secuencia de aminoácidos
65	Proteína inmadura de CTLA-4 humano (P16410)	MACLG FQRHKAQLNLATRTWPCTLLFFLLFIPVFCKA MHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVL RQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQ VNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYLIGIGNGTQ IYVIDPEPCPDSDFLWILAAVSSGLFFYSFLLTAVS LSKMLKKRSPLTTGVYVKMPTEPECEKQFQPYFIPIN
97	Epítipo de CTLA-4	YLG I
98	Epítipo de CTLA-4	YPPPYLGI
99	Epítipo de CTLA-4	YLGIGNGTQI
100	Epítipo de CTLA-4	YPPPYLIGIGNGTQI
101	Epítipo de CTLA-4	MYPPPY
102	Epítipo de CTLA-4	QVT
108	MACFA CTLA-4 (G7PL88)	MACLG FQRHKARLNLATRTRPYTLLFSLFIPVFSKA MHVAQPAVVLANSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVL RQADSQVTEVCAATYMMGNELTFLDDSICTGTSSGNQ VNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYMGIGNGTQ IYVIDPEPCPDSDFLWILAAVSSGLFFYSFLLTAVS LSKMLKKRSPLTTGVYVKMPTEPECEKQFQPYFIPIN
109	CTLA-4 de ratas (P09793)	MACLGLRRYKAQLQLPSRTWPFVALLTLLFIPVFSEA IQVTQPSVVLASSHGVSFPCYEYSPSHNTDEVRTVL RQTNDQMTEVCATTFTEKNTVGFLDYFPCSGTFNESR VNLTIQGLRAVDGTGLYLCKVELMYPPPYFVGMGNGTQ IYVIDPEPCPDSDFLWILVAVSLGLFFYSFLVSAVS LSKMLKKRSPLTTGVYVKMPTEPECEKQFQPYFIPIN
110	CTLA-4 de ratas (Q62859)	MACLGLQRYKTHLQLPSRTWPFVLLSLLFIPIFSEA IQVTQPSVVLASSHGVSFPCYEYASSHNTDEVRTVL RQTNDQVTEVCATTFTVKNTLGFLDDPFCSGTFNESR VNLTIQGLRAADTGLYFCKVELMYPPPYFVGMGNGTQ IYVIDPEPCPDSDFLWILAAVSSGLFFYSFLVTAVS LNRTLKKRSPLTTGVYVKMPTEPECEKQFQPYFIPIN
111	CD28 humano (P10747)	MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQSPMLVAYDNAVN LSCKYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEVCVYGNYSQ QLQVYSKTGFNCDGKLGNESVTFYLNLYVNQTDIYF CKIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCPSPFLPG PSKPFWVLVVVGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSL LLHSDYMNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRS

SEQ ID N°	Descripción *	Secuencia de aminoácidos
112	ICOS humano (Q9Y6W8)	MKSGLWYFFLFCLRIKVLGTGEINGSANYEMFIFHNGG VQILCKYPDIVQQFKMQLLKGGQILCDLTKTKGSGNT VSIKSLKFCHSQLSNNSVSFFLYNLDSHANYFYFCNL SIFDPPPFKVTLTGGYLHIYESQLCCQLKFWLPIGCA AFVVVCILGCILICWLTKKKYSSSVHDPNGEYMFMR VNTAKKSRLTDVTL
113	BTLA humano (Q7Z6A9)	MKTLPAMLGTGKLFVWFVFLIPYLDIWNHKGESCDVQ LYIKRQSEHSILAGDPFELECPVKYCANRPHVTWCKL NGTTCVKLEDRQTSWKEEKNISSFFILHFEPVLPNDNG SYRCSANFQSNLIESHSTTLYVTDVKSASERPSKDEM ASRPWLLYRLLPLGGLPLLITTCFCLFCCLRRHQGKQ NELSDTAGREINLVD AHLKSEQTEASTRQNSQVLLSE TGIYDNDPDLCFRMQEGSEVYSNPCLEENKPGIVYAS LNHSVIGPNSRLARNVKEAPTEYASICVRS

[00133] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende un dominio VH que comprende una, dos o todas las tres CDRs de un dominio VH discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRH1 de uno de los dominios VH discriminados en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRH2 de uno de los dominios VH discriminados en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRH3 de uno de los dominios VH discriminados en la Tabla 1 del presente.

[00134] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende un dominio VL que comprende una, dos o todas las tres CDRs de un dominio VL discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRL1 de un dominio VL discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRL2 de un dominio VL discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRL3 de un dominio VL discriminado en la Tabla 1 del presente.

[00135] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según Kabat et al, *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977) y Kabat et al, *Sequences of Protein of Immunological Interest* (1991), cada uno de los cuales integralmente incorporado al presente por referencia.

[00136] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el

esquema de numeración de Chothia, que se refiere a la ubicación de circuitos estructurales de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Chothia, C. & Lesk, A. M. (1987), *J. Mol. Biol.* 196: 901-917; Al-Lazikani, B. et al (1997), *J. Mol. Biol.* 273: 927-948; Chothia, C. et al (1992), *J. Mol. Biol.* 227: 799-817; Tramontano, A. et al (1990), *J. Mol. Biol.* 215 (1): 175-82; y Patente Norteamericana nº 7.709.226, todos los cuales son integralmente incorporados al presente por referencia). Típicamente, al utilizarse la convención de numeración de Kabat, el circuito de CDRH1 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena pesada 26 a 32, 33 ó 34, el circuito CDRH2 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena pesada 52 a 56 y el circuito CDRH3 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena pesada 95 a 102, mientras el circuito CDRL1 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena ligera 24 a 34, el circuito de CDRL2 de Chothia está presente en los aminoácidos 50 a 56 y el circuito CDRL3 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena ligera 89 a 97. El final del circuito CDRH1 de Chothia, mientras numerado utilizando la convención de numeración de Kabat, varía de H32 a H34, dependiendo de la longitud del circuito (esto porque el esquema de numeración de Kabat posiciona las inserciones en H35A y H35B; de no estar presente 35A ni 35B, el circuito termina en 32; de solo 35A estar presente, el circuito termina en 33; de estar presentes ambos, 35A y 35B, el circuito termina en 34).

[00137] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de Chothia de un VH discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VL de Chothia de un VL discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de Chothia y las CDRs de VL de Chothia de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, los anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprenden una o más CDRs, en que las CDRs de Chothia y Kabat poseen la misma secuencia de aminoácidos. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y comprende una combinación de CDRs de Kabat y CDRs de Chothia.

[00138] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el sistema de numeración de IMGT descrito en Lefranc, M-P (1999), *The Immunologist* 7: 132-136 e Lefranc, M-P et al (1999), *Nucleic Acids Res.* 27: 209-212, cada uno de ellos integralmente incorporado al presente por referencia. En algunas realizaciones, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración IMGT; por ejemplo, según lo descrito en Lefranc, M-P (1999) arriba y por Lefranc, M-P et al (1999), arriba.

[00139] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de IMGT de un VH discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VL de IMGT de un VL discriminado en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de IMGT y las CDRs de VL de IMGT de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y comprende una combinación de CDRs de Kabat y CDRs de IMGT.

[00140] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el esquema de numeración de AbM, que designa las regiones hipervariables de AbM, que representan un compromiso entre las CDRs de Kabat y los circuitos estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelación de anticuerpos AbM de la Oxford Molecular (Oxford Molecular Group, Inc.), integralmente incorporado al presente por referencia. En una realización específica, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración AbM.

[00141] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según MacCallum, R. M. et al (1996), *J. Mol. Biol.* 262: 732-745, integralmente incorporado al presente por referencia. Véase también, por ejemplo, Martin, A., *Protein Sequence and Structure*

Analysis of Antibody Variable Domains, en *Antibody Engineering*, Kontermann y Dübel, eds., Capítulo 31, págs. 422-439, Springer-Verlag, Berlín (2001), integralmente incorporado al presente por referencia. En una realización específica, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración MacCallum.

[00142] Consecuentemente, en algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de una región variable de cadena pesada establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13 y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de la región CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19, en que cada CDR es definida según la definición de Kabat, la definición de Chothia, la combinación de la definición de Kabat y la definición de Chothia, el sistema de numeración IMGT, la definición de AbM o la definición de contacto de CDR.

[00143] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que X₁ es S o A; y X₂ es N o S; y/o
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22), en que X es D o E; y/o
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N; y/o
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que X₁ es S o G; X₂ es R, S o T; y X₃ es G o A; y/o
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que X₁ es G o A; X₂ es A o T; y X₃ es T, S, R o N; y/o
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que X₁ es S o T; y X₂ es W o F.

[00144] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), en que el anticuerpo comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que X₁ es S o A; y X₂ es N o S;
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que X₁ es S o G; X₂ es R, S o T; y X₃ es G o A;
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que X₁ es G o A; X₂ es A o T; y X₃ es T, S, R o N; y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que X₁ es S o T; y X₂ es W o F.

[00145] En algunas realizaciones, CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 20 y 21. En algunas realizaciones, CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 24 y 26. En algunas realizaciones, CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 27, 28 y 29. En algunas realizaciones, CDRL2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 30-35. En algunas realizaciones, CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 36, 37 y 38. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 2. En algunas realizaciones, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 3.

[00146] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en que CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 20, 22 y 24; 20, 22 y ; 21, 22 y 24; ó 21, 22 y 26.

[00147] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 27, 30 y 36; 28, 31 y 36; 29, 32 y 37; 29, 33 y 38; 29, 34 y 36; ó 29, 35 y 38.

[00148] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36; 20, 22, 24, 29, 32 y 37; 20, 22, 24, 29, 33 y 38; 21, 22, 24, 27, 30 y 36; 21, 22, 24, 29, 33 y 38; 20, 22, 24, 28, 31 y 36; 20, 22, 24, 29, 34 y 36; 20, 22, 24, 29, 35 y 38; 21, 22, 26, 27, 30 y 36; 21, 22, 26, 29, 32 y 37; 21, 22, 26, 29, 33 y 38; ó 21, 22, 26, 29, 35 y 38, respectivamente.

[00149] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36.

[00150] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 116.

[00151] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una

región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 10. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 11. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 12. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 13.

[00152] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 47.

[00153] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 14-19. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 14-19. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 15. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 16. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 17. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que

posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 18. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 19.

[00154] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13, y una región variable de cadena ligera que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13 y una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 16, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 9 y 14, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 9 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, el

[illegible]

algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 13 y 17, respectivamente.

[00155] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana (por ejemplo, IGHV3-21*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 48). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-21. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana.

[00156] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 humana (por ejemplo, IGKV3-20*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 49) o una secuencia de línea germinal IGKV3-11 humana (por ejemplo, IGKV3-11*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 50). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana.

[00157] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana (por ejemplo, IGHV3-21*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 48) y una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 (por ejemplo, IGKV3-20*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 49)

o una secuencia de línea germinal IGKV3-11 humana (por ejemplo, IGKV3-11*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 50). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 de la región variable de cadena pesada (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana. Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 de la región variable de cadena ligera (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana.

[00158] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 51-54 y 117. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 51. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 52. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 53. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 54. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 117.

[00159] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59.

[00160] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), que comprende una cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 51-54 y 117, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 52 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 53 y 59,

respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 54 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 117 y 59, respectivamente.

[00161] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que compite por la ligación a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que compite por la ligación a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente.

[00162] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga al mismo epítipo sobre CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) que un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga al mismo epítipo sobre CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) que un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 100. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 99. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 98. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 97. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 101. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítipo ubicado en una región de

CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 102.

[00163] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y trabaja como antagonista.

[00164] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y reduce la actividad de CTLA-4 en al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente y/o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la actividad de CTLA-4 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4). En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y reduce la actividad de CTLA-4 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente y/o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la actividad de CTLA-4 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4). Ejemplos no limitantes de la actividad de CTLA-4 pueden incluir la señalización de CTLA-4, ligación de CTLA-4 a ligante CTLA-4 (por ejemplo, CD80 ó CD86), inhibición de la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) e inhibición de la proliferación de células T. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y desactiva, reduce o inhibe la actividad de CTLA-4. En realizaciones específicas, se determina la reducción de la actividad de CTLA-4 según lo descrito en los Ejemplos abajo.

[00165] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y reduce la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86) en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86), sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4). En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano y reduce la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80

veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86), sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4).

[00166] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano e incrementa la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99%, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de citoquinas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4). En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano e incrementa la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de citoquinas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4).

[00167] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y, aisladamente o en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab o tremelimumab), un anticuerpo anti-TIGIT, un anticuerpo anti-CD137 (por ejemplo, urelumab o utomilumab) o un anticuerpo anti-OX40 (por ejemplo, pogalizumab o tavolixizumab), incrementa la producción de IL-2 en células mononucleares de la sangre periférica humana (PBMCs) en respuesta al estímulo de enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de IL-2 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un

anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4).

[00168] En algunas realizaciones, células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) humanas estimuladas con enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) en la presencia de un anticuerpo descrito en el presente, que se liga específicamente a CTLA-4 humano, aisladamente o en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, nivolumab o pembrolizumab), un anticuerpo anti-TIGIT, un anticuerpo anti-CD137 (por ejemplo, urelumab o utomilumab) o un anticuerpo anti-OX40 (por ejemplo, pogalizumab o tavolixizumab) han incrementado la producción de IL-2 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces con relación a PBMCs solo estimuladas con SEA, sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4), según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia.

[00169] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano e incrementa la producción de IFN γ de un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de IFN γ de un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4).

[00170] En algunas realizaciones, un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas en la presencia de un anticuerpo descrito en el presente, que se liga específicamente a CTLA-4 humano, ha incrementado la producción de IFN γ en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, con relación a un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por

ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4), según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia.

[00171] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano e incrementa la proliferación de células T en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4). En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano e incrementa la proliferación de células T en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4).

En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 humano e incrementa la proliferación de células T CD4+ o CD8+ estimuladas por anticuerpos anti-CD3 en cocultivo con fluido de ascitis de cáncer de ovario en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T CD4+ o CD8+ estimuladas por anticuerpo anti-CD3 en cocultivo con fluido de ascitis de cáncer de ovario sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4).

[00172] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente son anticuerpos activables que, en estado activado, ligan proteína CTLA-4 humana. En algunas realizaciones, el

anticuerpo activable comprende una porción de máscara que inhibe la ligación del anticuerpo en estado no dividido a la proteína CTLA-4 humana y por lo menos una porción divisible acoplada al anticuerpo, por ejemplo, en que la porción divisible es un polipéptido que funciona como sustrato para una proteasa que es enriquecida en el microambiente del tumor. Ejemplos de anticuerpos activables son descritos, por ejemplo, en las Patentes Norteamericanas n° 8.513.390 y 8.518.404 y en los Pedidos de Patente Norteamericanos publicados n° US 2014/0255313, US 2014/0010810 y US 2014/0023664, que son incorporados al presente por referencia. En algunas realizaciones, el anticuerpo activable comprende una región constante de cadena pesada de IgG humano que es una variante de una región constante de cadena pesada de IgG humano del tipo salvaje, en que la región constante de cadena pesada de IgG humana variante se liga a FcγRIIIA humano con afinidad más alta que la región constante de cadena pesada de IgG humano del tipo salvaje se liga a FcγRIIIA humano.

6.2.2 Anticuerpos anti-PD-1:

[00173] En un aspecto, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y antagonizan la función de PD-1. También se suministran en el presente anticuerpos multiespecíficos que comprenden una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 humano (por ejemplo, PD-1 humano) y, opcionalmente, una segunda región de ligación de antígeno que no se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano). Las secuencias de aminoácidos de ejemplos de anticuerpos son descritas en las Tablas 6 a 10 del presente.

Tabla 6. Secuencias de aminoácidos de ejemplos de anticuerpos anti-PD-1*:

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
66	AGEN2034 VH (BADD438-2744)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGQGTLVTVSS
67	BADD438-2742 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNV D YWGQGTLVTVSS
68	BADD426-2614 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCATNGDYWGQGTLVTVSS
69	BADD426-2615 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGSKNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNGDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
70	BADD438-2743 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGDSNEYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGQGT LVTVSS
71	BADD438-2745 VH	QVQLVESGGGMVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWF DGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGQGT LVTVSS
72	BADD438-2746 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGDSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGHGT LVTVSS
73	BADD438-2747 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGDSNKYYADSV MGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGQGT LVTVSS
74	AGEN2034 VL/3738 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPG QAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSED FAVYYCQQYNNWPRTFGQGTKVEIK
75	CDRH1	SYGMH
76	CDRH2	VIWYDGSNKYYADSVKG
77	CDRH2	VIWYDGSNEYADSVKG
78	CDRH2	VIWFDGSNKYYADSVKG
79	CDRH2	VIWYDGSNKYYADSVMG
80	CDRH3	NVDY
81	CDRH3	NGDH
82	CDRH3	NGDY
83	CDRL1	RASQSVSSNLA
84	CDRL2	GASTRAT
85	CDRL3	QQYNNWPRT
86	CDRH2 de consenso	VIWX ₁ DGSNX ₂ YYADSVX ₃ G, en que: X ₁ es Y o F; X ₂ es K o E; y X ₃ es K o M
87	CDRH3 de consenso	NX ₁ DX ₂ , en que: X ₁ es G o V; y X ₂ es H o Y
88	Secuencia de consenso de VH	QVQLVESGGGX ₁ VQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAVIWX ₂ DGSNX ₃ YYADSVX ₄ GRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCAX ₅ NX ₆ DX ₇ WX ₈ GTLVTVSS, en que: X ₁ es V o M; X ₂ es Y o F; X ₃ es K o E; X ₄ es K o M; X ₅ es S o T; X ₆ es G o V; X ₇ es H o Y; y X ₈ es Q o H
89	Secuencia de línea germinal: IGHV3-33*01	QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAP GKGLEWVAVIWDGDSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAR

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
90	Secuencia de línea germinal: IGKV3-15*01	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNWNP
91	Cadena pesada de AGEN2034 (IgG4 S228P)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
92	Cadena pesada de AGEN2034 (IgG1 N297A)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASNGDHWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
120	Cadena pesada de AGEN2033 (IgG4 S228P)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCASNVYWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
93	Cadena ligera de AGEN2034	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNWNPRTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID N°	Descripción	Secuencia de aminoácidos
60	IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP G
94	IgG1 N297A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP G
95	IgG4 S228P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYT CNVDHKPSNTKVDKRVEPKSGYPPCPAPEFLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLY SRLTVDKSRWQEGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSP G
64	Región constante de cadena ligera	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

* Las CDRs se definen según el sistema de numeración de Kabat.

Tabla 7. Secuencias de aminoácidos de CDR de cadena pesada de ejemplos de anticuerpos anti-PD-1*:

VH (SEQ ID N°)	CDRH1 (SEQ ID N°)	CDRH2 (SEQ ID N°)	CDRH3 (SEQ ID N°)
BADD438-2742 VH (67)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NVDY (80)
AGEN2034 VH (66)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDH (81)
BADD426-2614 VH (68)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDY (82)
BADD426-2615 VH (69)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDY (82)
BADD438-2743 VH (70)	SYGMH (75)	VIWYDGSNEYADSVKG (77)	NGDH (81)
BADD438-2745 VH (71)	SYGMH (75)	VIWFDGSNKYYADSVKG (78)	NGDH (81)
BADD438-2746 VH (72)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVKG (76)	NGDH (81)

VH (SEQ ID N°)	CDRH1 (SEQ ID N°)	CDRH2 (SEQ ID N°)	CDRH3 (SEQ ID N°)
BADD438-2747 VH (73)	SYGMH (75)	VIWYDGSNKYYADSVMG (79)	NGDH (81)

* Definido según el sistema de numeración de Kabat.

Tabla 8. Secuencias de aminoácidos de CDR de cadena ligera de ejemplos de anticuerpos anti-PD-1.

VL (SEQ ID N°)	CDRL1 (SEQ ID N°)	CDRL2 (SEQ ID N°)	CDRL3 (SEQ ID N°)
AGEN2034 VL/3738 VL (74)	RASQSVSSNLA (83)	GASTRAT (84)	QQYNNWPRT (85)

* Definido según el sistema de numeración de Kabat.

Tabla 9. Ejemplos de anticuerpos anti-PD-1:

Anticuerpo	Región variable de cadena pesada	SEQ ID N°	Región variable de cadena ligera	SEQ ID N°
AGEN2033	BADD438-2742 VH	67	3738 VL	74
AGEN2034	AGEN2034 VH	66	3738 VL	74
AGEN2001	BADD426-2614 VH	68	3738 VL	74
AGEN2002	BADD426-2615 VH	69	3738 VL	74
EP11_pl1_B03	BADD438-2743 VH	70	3738 VL	74
EP11_pl1_B05	BADD438-2745 VH	71	3738 VL	74
EP11_pl1_C02	BADD438-2746 VH	72	3738 VL	74
EP11_pl1_C03	BADD438-2747 VH	73	3738 VL	74

Tabla 10. Ejemplos de secuencias de PD-1:

SEQ ID N°	Descripción *	Secuencia de aminoácidos
96	Proteína inmadura PD-1 humana (Q15116)	MQIPQAPWPVVWAVLQLGWRPGWFLDSPDRPWNPPPTFSPAL LVVTEGDNATFTCSFSNTSESFVLNWMSPSNQTDKLA PEDRSQPGQDCRFRTQLPNGRDFHMSVVRARRNDSTGTYLC GAISLAPKAQIKESLRAELRVTERRAEVPTAHPSPSPRPAG QFQTLVVGTVGGLLGLVLLVWVLAVICSRAARGTIGARRT GQPLKEDPSAVPVFSDYGEIDFQWREKTPEPPVPCVPEQT EYATIVFPPSGMGTTSSPARRGSADGPRSAQPLRPEDGHCSWP L
103	Epítipo de PD-1	SLAPKAQIKESLRAEL
104	Epítipo de PD-1	LDSPDRPWNPPPTFSPALL
105	Epítipo de PD-1	DSPDRPWNPP

SEQ ID N°	Descripción *	Secuencia de aminoácidos
106	Epítipo de PD-1	EVPTAHPSP
107	Epítipo de PD-1	ISLAPKAQ

[00174] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende una, dos o todas las tres CDRs de una región variable de cadena pesada discriminada en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRH1 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRH2 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRH3 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 6.

[00175] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que comprende una, dos o todas las tres CDRs de una región variable de cadena ligera discriminada en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRL1 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRL2 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende el CDRL3 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 6.

[00176] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según Kabat et al, *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977) y Kabat et al, *Sequences of Protein of Immunological Interest* (1991), cada uno de ellos integralmente incorporado al presente por referencia.

[00177] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el esquema de numeración de Chothia, que se refiere a la ubicación de circuitos estructurales de inmunoglobulina (véase, por ejemplo, Chothia, C. & Lesk, A. M. (1987), *J. Mol. Biol.* 196: 901-917; Al-Lazikani, B. et al (1997), *J. Mol. Biol.* 273: 927-948; Chothia, C. et al (1992), *J. Mol. Biol.* 227: 799-817; Tramontano, A. et al (1990), *J. Mol. Biol.* 215 (1): 175-82; y Patente

Norteamericana n° 7.709.226, todos los cuales son integralmente incorporados al presente por referencia). Típicamente, al utilizarse la convención de numeración de Kabat, el circuito de CDRH1 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena pesada 26 a 32, 33 ó 34, el circuito CDRH2 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena pesada 52 a 56 y el circuito CDRH3 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena pesada 95 a 102, mientras el circuito CDRL1 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena ligera 24 a 34, el circuito de CDRL2 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena ligera 50 a 56 y el circuito CDRL3 de Chothia está presente en los aminoácidos de cadena ligera 89 a 97. El final del circuito CDRH1 de Chothia, mientras numerado utilizando la convención de numeración de Kabat, varía de H32 a H34, dependiendo de la longitud del circuito (esto porque el esquema de numeración de Kabat posiciona las inserciones en H35A y H35B; de no estar presente 35A ni 35B, el circuito termina en 32; de solo 35A estar presente, el circuito termina en 33; de estar presentes ambos, 35A y 35B, el circuito termina en 34).

[00178] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de Chothia de un VH discriminado en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VL de Chothia de un VL discriminado en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de Chothia y las CDRs de VL de Chothia de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, anticuerpos que se ligan específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprenden una o más CDRs, en que las CDRs de Chothia y Kabat poseen la misma secuencia de aminoácidos. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y comprende una combinación de CDRs de Kabat y CDRs de Chothia.

[00179] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el sistema de numeración de IMGT descrito en Lefranc, M-P (1999), arriba, y Lefranc, M-P et al (1999), arriba, cada uno de ellos integralmente incorporado al presente por referencia. En algunas realizaciones, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente

a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración IMGT; por ejemplo, según lo descrito en Lefranc, M-P (1999) arriba y por Lefranc, M-P et al (1999), arriba.

[00180] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de IMGT discriminadas en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VL de IMGT de un VL discriminado en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende las CDRs de VH de IMGT y las CDRs de VL de IMGT de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y comprende una combinación de CDRs de Kabat y CDRs de IMGT.

[00181] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según el esquema de numeración de AbM, que designa las regiones hipervariables de AbM, que representan un compromiso entre las CDRs de Kabat y los circuitos estructurales de Chothia, y son utilizadas por el software de modelación de anticuerpos AbM de Oxford Molecular (Oxford Molecular Group, Inc.), integralmente incorporado al presente por referencia. En una realización específica, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración AbM.

[00182] En algunas realizaciones, las CDRs de un anticuerpo pueden determinarse según MacCallum, R. M. et al (1996), *J. Mol. Biol.* 262: 732-745, integralmente incorporado al presente por referencia. Véase también, por ejemplo, Martin, A., *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*, en *Antibody Engineering*, Kontermann y Dübel, eds., Capítulo 31, págs. 422-439, Springer-Verlag, Berlín (2001), integralmente incorporado al presente por referencia. En una realización específica, la presente invención suministra anticuerpos que se ligan específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración MacCallum.

[00183] Consecuentemente, en algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de una región variable de cadena pesada establecida en SEQ ID N° 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 ó 73 y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de la región CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 74, en que cada CDR es definida según la definición de Kabat, la definición de Chothia, la combinación de la definición de Kabat y la definición de Chothia, el sistema de numeración IMGT, la definición de AbM o la definición de contacto de CDR.

[00184] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75); y/o
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que X₁ es Y o F; X₂ es K o E; y X₃ es K o M; y/o
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que X₁ es G o V; y X₂ es H o Y; y/o
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83); y/o
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y/o
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[00185] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que el anticuerpo comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que X₁ es Y o F; X₂ es K o E; y X₃ es K o M;
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que X₁ es G o V; y X₂ es H o Y;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[00186] En algunas realizaciones, CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 76-79. En algunas realizaciones, CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 80-82. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 7. En algunas realizaciones, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 8.

[00187] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en que CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 75, 76 y 80; 75, 76 y 81; 75, 76 y 82; 75, 77 y 81; 75, 78 y 81; ó 75, 79 y 81.

[00188] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 83, 84 y 85.

[00189] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 75, 78, 81, 83, 84 y 85; ó 75, 79, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[00190] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que las regiones CDRH1,

CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[00191] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 88.

[00192] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 66-73. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 66-73. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 66. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 67. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 68. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 69. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 70. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 71. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 72. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 73.

[00193] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, el

anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74.

[00194] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 ó 73 y una región variable de cadena ligera que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 ó 73 y una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 67 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 68 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 69 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 70 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 71 y 74, respectivamente. En

algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 72 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 73 y 74, respectivamente.

[00195] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana (por ejemplo, IGHV3-33*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 89). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-33. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana.

[00196] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana (por ejemplo, IGKV3-15*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 90). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-15. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[00197] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana (por ejemplo, IGHV3-33*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 89) y una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 (por ejemplo, IGKV3-15*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 90). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal

3, CDRH1 y CDRH2 de la región variable de cadena pesada (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana. Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 de la región variable de cadena ligera (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[00198] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 91 y 92. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 91. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 92.

[00199] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 93.

[00200] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 91 y 92, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 93. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 91 y 93, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 92 y 93, respectivamente.

[00201] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que compite por la ligación a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que compite por la ligación a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74,

respectivamente.

[00202] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga al mismo epítopo sobre CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) que un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga al mismo epítopo sobre CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) que un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítopo ubicado en una región de CTLA-4 humano que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 103. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítopo ubicado en una región de CTLA-4 humano que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 104. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítopo ubicado en una región de CTLA-4 humano que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 105. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítopo ubicado en una región de CTLA-4 humano que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 106. En algunas realizaciones, el anticuerpo aislado se liga a un epítopo ubicado en una región de CTLA-4 humano que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 107.

[00203] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano y trabaja como antagonista.

[00204] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano y reduce la actividad de PD-1 en al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente y/o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la actividad de PD-1 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1). En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano y reduce la actividad de PD-1 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60

veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente y/o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la actividad de PD-1 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1). Ejemplos no limitantes de la actividad de PD-1 pueden incluir la señalización de PD-1, ligación de PD-1 a ligante PD-1 (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2), inhibición de la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) e inhibición de la proliferación de células T. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano y desactiva, reduce o inhibe la actividad de PD-1. En realizaciones específicas, se determina la reducción de la actividad de PD-1 según lo descrito en los Ejemplos abajo.

[00205] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano y reduce la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2) en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2), sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1). En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano y reduce la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2), sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00206] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en

la materia, con relación a la producción de citoquinas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1). En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de citoquinas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00207] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y, aisladamente o en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab o tremelimumab), un anticuerpo anti-TIGIT, un anticuerpo anti-CD137 (por ejemplo, urelumab o utomilumab) o un anticuerpo anti-OX40 (por ejemplo, pogalizumab o tavolixizumab), incrementa la producción de IL-2 en células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) humanas, en reacción al estímulo de Enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de IL-2 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00208] En algunas realizaciones, células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) humanas estimuladas con enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) en la presencia de un anticuerpo descrito en el presente, que se liga específicamente a PD-1 humano, aisladamente o en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab o tremelimumab), un anticuerpo anti-TIGIT, un anticuerpo anti-CD137 (por ejemplo, urelumab o utomilumab) o un anticuerpo anti-OX40 (por ejemplo, pogalizumab o tavolixizumab) han incrementado la producción de IL-2 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10

veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces con relación a PBMCs solo estimuladas con SEA, sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1), según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia.

[00209] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la producción de IFN γ de un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de IFN γ de un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00210] En algunas realizaciones, un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas en la presencia de un anticuerpo descrito en el presente, que se liga específicamente a PD-1 humano, ha incrementado la producción de IFN γ en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, con relación a un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1), según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia.

[00211] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la proliferación de células T en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1). En algunas realizaciones, la presente

invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la proliferación de células T en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00212] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la proliferación de células T CD4+ o CD8+ estimuladas por anticuerpos anti-CD3 en cocultivo con fluido de ascitis de cáncer de ovario en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T CD4+ o CD8+ estimuladas por anticuerpo anti-CD3 en cocultivo con fluido de ascitis de cáncer de ovario sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00213] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a PD-1 humano e incrementa la señalización de NFAT en células relatoras de NFAT-luciferasa que expresan PD1 cocultivadas con células blanco que expresan PD-L1 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la señalización de NFAT en células relatoras de NFAT-luciferasa que expresan PD-1 en cocultivo con células blanco que expresan PD-L1 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

6.2.3 Anticuerpos multiespecíficos que se ligan específicamente a CTLA-4 y/o PD-1.

[00214] En un aspecto, el presente suministra anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) que se ligan específicamente a CTLA-4 y PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 humano y PD-1 humano). Un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, biespecífico) suministrado en el presente puede comprender, por ejemplo, una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano). Estos anticuerpos multiespecíficos exhiben convenientemente más especificidad para algunos subconjuntos de células inmunes que contienen la combinación de proteínas blanco que anticuerpos bivalentes mono-específicos que se ligan tan solo a CTLA-4 ó PD-1.

[00215] En una realización, un anticuerpo suministrado en el presente que se liga específicamente a CTLA-4 y PD-1 contiene una combinación de CDRs exhibidas en una sola línea de la Tabla 11 abajo.

Tabla 11. Secuencias de CDR de ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4/PD-1*:

SEQ ID N° de CDRs del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano						SEQ ID N° de CDRs del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano					
VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
20	22	24	27	30	36	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	76	80	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	76	80	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	76	80	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	76	80	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	76	80	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	76	80	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	76	80	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	76	80	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	76	80	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	76	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	76	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	76	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	76	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	76	81	83	84	85

SEQ ID N° de CDRs del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano						SEQ ID N° de CDRs del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano					
VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
20	22	24	29	35	38	75	76	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	76	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	76	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	76	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	76	81	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	76	82	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	76	82	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	76	82	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	76	82	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	76	82	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	76	82	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	76	82	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	76	82	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	76	82	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	77	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	77	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	77	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	77	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	77	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	77	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	77	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	77	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	77	81	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	78	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	78	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	78	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	78	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	78	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	78	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	78	81	83	84	85

SEQ ID N° de CDRs del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano						SEQ ID N° de CDRs del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano					
VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3
21	22	26	29	33	38	75	78	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	78	81	83	84	85
20	22	24	27	30	36	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	32	37	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	33	38	75	79	81	83	84	85
21	22	24	27	30	36	75	79	81	83	84	85
21	22	24	29	33	38	75	79	81	83	84	85
20	22	24	28	31	36	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	34	36	75	79	81	83	84	85
20	22	24	29	35	38	75	79	81	83	84	85
21	22	26	27	30	36	75	79	81	83	84	85
21	22	26	29	32	37	75	79	81	83	84	85
21	22	26	29	33	38	75	79	81	83	84	85
21	22	26	29	35	38	75	79	81	83	84	85

* Definido según el sistema de numeración de Kabat.

[00216] En una realización, un anticuerpo suministrado en el presente que se liga específicamente a CTLA-4 y PD-1 contiene una combinación de dos regiones variables de cadena pesada y dos regiones variables de cadena ligera exhibidas en una sola línea de la Tabla 12 abajo.

Tabla 12. Secuencias de región variable de cadena pesada (VH) y región variable de cadena ligera (VL) de ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4/PD-1:

SEQ ID N° de regiones variables del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano		SEQ ID N° de regiones variables del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano	
VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°	VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°
1	14	67	74
1	16	67	74
1	17	67	74
9	14	67	74
9	17	67	74
10	15	67	74
10	17	67	74
10	18	67	74

SEQ ID N° de regiones variables del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano		SEQ ID N° de regiones variables del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano	
VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°	VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°
10	19	67	74
11	15	67	74
11	14	67	74
11	16	67	74
11	17	67	74
12	14	67	74
12	16	67	74
12	17	67	74
12	19	67	74
13	15	67	74
13	17	67	74
1	14	66	74
1	16	66	74
1	17	66	74
9	14	66	74
9	17	66	74
10	15	66	74
10	17	66	74
10	18	66	74
10	19	66	74
11	15	66	74
11	14	66	74
11	16	66	74
11	17	66	74
12	14	66	74
12	16	66	74
12	17	66	74
12	19	66	74
13	15	66	74
13	17	66	74
1	14	68	74
1	16	68	74
1	17	68	74
9	14	68	74
9	17	68	74
10	15	68	74
10	17	68	74
10	18	68	74
10	19	68	74
11	15	68	74
11	14	68	74

SEQ ID N° de regiones variables del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano		SEQ ID N° de regiones variables del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano	
VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°	VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°
11	16	68	74
11	17	68	74
12	14	68	74
12	16	68	74
12	17	68	74
12	19	68	74
13	15	68	74
13	17	68	74
1	14	69	74
1	16	69	74
1	17	69	74
9	14	69	74
9	17	69	74
10	15	69	74
10	17	69	74
10	18	69	74
10	19	69	74
11	15	69	74
11	14	69	74
11	16	69	74
11	17	69	74
12	14	69	74
12	16	69	74
12	17	69	74
12	19	69	74
13	15	69	74
13	17	69	74
1	14	70	74
1	16	70	74
1	17	70	74
9	14	70	74
9	17	70	74
10	15	70	74
10	17	70	74
10	18	70	74
10	19	70	74
11	15	70	74
11	14	70	74
11	16	70	74
11	17	70	74
12	14	70	74

SEQ ID N° de regiones variables del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano		SEQ ID N° de regiones variables del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano	
VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°	VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°
12	16	70	74
12	17	70	74
12	19	70	74
13	15	70	74
13	17	70	74
1	14	71	74
1	16	71	74
1	17	71	74
9	14	71	74
9	17	71	74
10	15	71	74
10	17	71	74
10	18	71	74
10	19	71	74
11	15	71	74
11	14	71	74
11	16	71	74
11	17	71	74
12	14	71	74
12	16	71	74
12	17	71	74
12	19	71	74
13	15	71	74
13	17	71	74
1	14	72	74
1	16	72	74
1	17	72	74
9	14	72	74
9	17	72	74
10	15	72	74
10	17	72	74
10	18	72	74
10	19	72	74
11	15	72	74
11	14	72	74
11	16	72	74
11	17	72	74
12	14	72	74
12	16	72	74
12	17	72	74
12	19	72	74

SEQ ID N° de regiones variables del primer dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a CTLA-4 humano		SEQ ID N° de regiones variables del segundo dominio de ligación de antígenos que se liga específicamente a PD-1 humano	
VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°	VH SEQ ID N°	VL SEQ ID N°
13	15	72	74
13	17	72	74
1	14	73	74
1	16	73	74
1	17	73	74
9	14	73	74
9	17	73	74
10	15	73	74
10	17	73	74
10	18	73	74
10	19	73	74
11	15	73	74
11	14	73	74
11	16	73	74
11	17	73	74
12	14	73	74
12	16	73	74
12	17	73	74
12	19	73	74
13	15	73	74
13	17	73	74

[00217] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una, dos o todas las tres CDRs de una región variable de cadena pesada discriminada en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende el CDRH1 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende el CDRH2 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende el CDRH3 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 1.

[00218] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende una, dos o todas las tres CDRs de una región variable de cadena ligera discriminada en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la primera región de

ligación de antígeno comprende el CDRL1 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende el CDRL2 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende el CDRL3 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 1.

[00219] En algunas realizaciones, las CDRs de la primera región de ligación de antígeno pueden determinarse según Kabat et al, *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977) y Kabat et al, *Sequences of Protein of Immunological Interest* (1991), cada uno de ellos integralmente incorporado al presente por referencia.

[00220] En algunas realizaciones, las CDRs de la primera región de ligación de antígeno pueden determinarse según el esquema de numeración de Chothia, que se refiere a la ubicación de circuitos estructurales de inmunoglobulina (véanse, por ejemplo, Chothia, C. & Lesk, A. M. (1987), *J. Mol. Biol.* 196: 901-917; Al-Lazikani, B. et al (1997), *J. Mol. Biol.* 273: 927-948; Chothia, C. et al (1992), *J. Mol. Biol.* 227: 799-817; Tramontano, A. et al (1990), *J. Mol. Biol.* 215 (1): 175-82; y la Patente Norteamericana nº 7.709.226, todos ellos integralmente incorporados al presente por referencia). En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende las CDRs de VH de Chothia de una VH discriminada en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende las CDRs de VL de Chothia de una VL discriminada en la Tabla 1. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende las CDRs de VH de Chothia y las CDRs de VL de Chothia de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una o más CDRs, en que las CDRs de Chothia y Kabat poseen la misma secuencia de aminoácidos. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una combinación de CDRs de Kabat y CDRs de Chothia.

[00221] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración IMGT;

por ejemplo, según lo descrito en Lefranc, M-P (1999) arriba y por Lefranc, M-P et al (1999), arriba.

[00222] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende las CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente, según lo determinado por el esquema de numeración AbM.

[00223] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende las CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 1 del presente, según lo determinado por el esquema de numeración de MacCallum.

[00224] Consecuentemente, en algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de una región variable de cadena pesada establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13 y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de la región CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19, en que cada CDR es definida según la definición de Kabat, la definición de Chothia, la combinación de la definición de Kabat y la definición de Chothia, el sistema de numeración IMGT, la definición de AbM o la definición de contacto de CDR.

[00225] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que X₁ es S o A; y X₂ es N o S; y/o
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22); y/o
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N; y/o
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que X₁ es S o G; X₂ es R, S o T; y X₃ es G o A; y/o
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en

que X₁ es G o A; X₂ es A o T; y X₃ es T, S, R o N; y/o

f. CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que X₁ es S o T; y X₂ es W o F.

[00226] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende:

a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYX₁MX₂ (SEQ ID N° 39), en que X₁ es S o A; y X₂ es N o S;

b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de SSSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID N° 22);

c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de VGLMGPFXI (SEQ ID N° 115), en que X es D o N;

d. CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVX₁X₂YLX₃ (SEQ ID N° 43), en que X₁ es S o G; X₂ es R, S o T; y X₃ es G o A;

e. CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos de X₁X₂SX₃RAT (SEQ ID N° 44), en que X₁ es G o A; X₂ es A o T; y X₃ es T, S, R o N; y

f. CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYGX₁SPX₂T (SEQ ID N° 45), en que X₁ es S o T; y X₂ es W o F.

[00227] En algunas realizaciones, CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 20 y 21. En algunas realizaciones, CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 24 y 26. En algunas realizaciones, CDR1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 27, 28 y 29. En algunas realizaciones, CDR2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 30-35. En algunas realizaciones, CDR3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 36, 37 y 38. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 2. En algunas realizaciones, CDR1, CDR2 y CDR3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDR1, CDR2 y CDR3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 3.

[00228] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de

cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en que CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 20, 22 y 24; 21, 22 y 24; ó 21, 22 y 26.

[00229] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 27, 30 y 36; 28, 31 y 36; 29, 32 y 37; 29, 33 y 38; 29, 34 y 36; ó 29, 35 y 38.

[00230] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36; 20, 22, 24, 29, 32 y 37; 20, 22, 24, 29, 33 y 38; 21, 22, 24, 27, 30 y 36; 21, 22, 24, 29, 33 y 38; 20, 22, 24, 28, 31 y 36; 20, 22, 24, 29, 34 y 36; 20, 22, 24, 29, 35 y 38; 21, 22, 26, 27, 30 y 36; 21, 22, 26, 29, 32 y 37; 21, 22, 26, 29, 33 y 38; ó 21, 22, 26, 29, 35 y 38, respectivamente.

[00231] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30 y 36, respectivamente.

[00232] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 46.

[00233] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga

específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 9. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 10. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 11. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 12. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 13.

[00234] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 47.

[00235] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno

comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 15. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 16. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 17. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 18. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 19.

[00236] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13, y una región variable de cadena ligera que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 1, 9, 10, 11, 12 ó 13 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 14, 15, 16, 17, 18 ó 19. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de

variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 12 y 14, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 12 y 16, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 12 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 12 y 19, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 13 y 15, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 13 y 17, respectivamente.

[00237] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana (por ejemplo, IGHV3-21*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 48). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana.

[00238] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 humana (por ejemplo, IGKV3-20*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 49) o una secuencia de línea germinal IGKV3-11 humana (por ejemplo, IGKV3-11*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 50). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena

principal 3, CDRL1 y CDRL2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana.

[00239] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana (por ejemplo, IGHV3-21*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 48) y una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 (por ejemplo, IGKV3-20*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 49) o una secuencia de línea germinal IGKV3-11 (por ejemplo, IGKV3-11*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 50). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 de la región variable de cadena pesada (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-21 humana. Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 de la cadena ligera (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-20 ó IGKV3-11 humana.

[00240] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 51-54 y 117. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 51. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 52. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada que posee la secuencia de

aminoácidos establecida en SEQ ID N° 53. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 54. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 117.

[00241] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59.

[00242] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 51-54 y 117 y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 59. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 51 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 52 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 53 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 54 y 59, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 117 y 59, respectivamente.

[00243] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno compite por la ligación a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno compite por la ligación a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano), con un anticuerpo que comprende las secuencias de

aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente.

[00244] En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga al mismo epítipo sobre CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) que un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14; 1 y 16, 1 y 17; 9 y 14; 9 y 17; 10 y 15; 10 y 17; 10 y 18; 10 y 19; 11 y 15; 11 y 14; 11 y 16; 11 y 17; 12 y 14; 12 y 16; 12 y 17; 12 y 19; 13 y 15; ó 13 y 17, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga al mismo epítipo sobre CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) que un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 1 y 14, respectivamente. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 100. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 99. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 98. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 97. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 101. En algunas realizaciones, la primera región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de CTLA-4 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 102.

[00245] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una, dos o todas las tres CDRs de una región variable de cadena pesada discriminada en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende el CDRH1 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende el CDRH2 de una de las regiones variables de

cadena pesada discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende el CDRH3 de una de las regiones variables de cadena pesada discriminadas en la Tabla 6.

[00246] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende una, dos o todas las tres CDRs de una región variable de cadena ligera discriminada en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende el CDRL1 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende el CDRL2 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 6. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende el CDRL3 de una de las regiones variables de cadena ligera discriminadas en la Tabla 6.

[00247] En algunas realizaciones, las CDRs de la segunda región de ligación de antígeno pueden determinarse según Kabat et al, *J. Biol. Chem.* 252, 6609-6616 (1977) y Kabat et al, *Sequences of Protein of Immunological Interest* (1991), cada uno de ellos integralmente incorporado al presente por referencia.

[00248] En algunas realizaciones, las CDRs de la segunda región de ligación de antígeno pueden determinarse según el esquema de numeración de Chothia, que se refiere a la ubicación de circuitos estructurales de inmunoglobulina (véanse, por ejemplo, Chothia, C. & Lesk, A. M. (1987), *J. Mol. Biol.* 196: 901-917; Al-Lazikani, B. et al (1997), *J. Mol. Biol.* 273: 927-948; Chothia, C. et al (1992), *J. Mol. Biol.* 227: 799-817; Tramontano, A. et al (1990), *J. Mol. Biol.* 215 (1): 175-82; y la Patente Norteamericana nº 7.709.226, todos ellos integralmente incorporados al presente por referencia). En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende las CDRs de VH de Chothia de una VH discriminada en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende las CDRs de VL de Chothia de una VL descrita en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende las CDRs de VH de Chothia y

las CDRs de VL de Chothia de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una o más CDRs, en que las CDRs de Chothia y Kabat poseen la misma secuencia de aminoácidos. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una combinación de CDRs de Kabat y CDRs de Chothia.

[00249] En algunas realizaciones, las CDRs de la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprenden CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente, según lo determinado por el sistema de numeración IMGT; por ejemplo, según lo descrito en Lefranc, M-P (1999) arriba y por Lefranc, M-P et al (1999), arriba.

[00250] En algunas realizaciones, las CDRs de la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprenden las CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente, según lo determinado por el esquema de numeración AbM.

[00251] En algunas realizaciones, las CDRs de la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprenden las CDRs de un anticuerpo descrito en la Tabla 6 del presente, según lo determinado por el esquema de numeración de MacCallum.

[00252] Consecuentemente, en algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las secuencias de aminoácidos de las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3 de una región variable de cadena pesada establecida en SEQ ID N° 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 ó 73 y una región variable de cadena ligera que comprende las secuencias de aminoácidos de la región CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 74, en que cada CDR es definida según la definición de Kabat, la definición de Chothia, la combinación de la definición de Kabat y la definición de Chothia, el sistema de numeración IMGT, la definición de AbM o la definición de contacto de CDR.

[00253] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75); y/o
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que X₁ es Y o F; X₂ es K o E; y X₃ es K o M; y/o
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que X₁ es G o V; y X₂ es H o Y; y/o
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83); y/o
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y/o
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[00254] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende:

- a. CDRH1 comprende la secuencia de aminoácidos de SYGMH (SEQ ID N° 75);
- b. CDRH2 comprende la secuencia de aminoácidos de VIWX₁DGSNX₂YYADSVX₃G (SEQ ID N° 86), en que X₁ es Y o F; X₂ es K o E; y X₃ es K o M;
- c. CDRH3 comprende la secuencia de aminoácidos de NX₁DX₂ (SEQ ID N° 87), en que X₁ es G o V; y X₂ es H o Y;
- d. CDRL1 comprende la secuencia de aminoácidos de RASQSVSSNLA (SEQ ID N° 83);
- e. CDRL2 comprende la secuencia de aminoácidos de GASTRAT (SEQ ID N° 84); y
- f. CDRL3 comprende la secuencia de aminoácidos de QQYNNWPRT (SEQ ID N° 85).

[00255] En algunas realizaciones, CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 76-79. En algunas realizaciones, CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 80-82. En algunas realizaciones, CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 7. En algunas realizaciones, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, de un anticuerpo de la Tabla 8.

[00256] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, en que CDRH1, CDRH2 y CDRH3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2 y CDRH3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 75, 76 y 80; 75, 76 y

81; 75, 76 y 82; 75, 77 y 81; 75, 78 y 81; ó 75, 79 y 81.

[00257] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 83, 84 y 85.

[00258] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones de determinación de la complementariedad CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, respectivamente, establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 75, 78, 81, 83, 84 y 85; ó 75, 79, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[00259] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende las regiones CDRH1, CDRH2 y CDRH3 y una región variable de cadena ligera que comprende las regiones CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en que las regiones CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 75, 76, 81, 83, 84 y 85, respectivamente.

[00260] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 88.

[00261] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 66-73. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena

pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 66-73. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 66. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 67. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 68. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 69. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 70. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 71. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 72. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 73.

[00262] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 74.

[00263] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 ó 73

y una región variable de cadena ligera que es al menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95% ó 100% (por ejemplo, al menos 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 ó 99%) idéntica a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 ó 73 y una región variable de cadena ligera establecida en SEQ ID N° 74. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 67 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 68 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 69 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 70 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 71 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 72 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno comprende una región variable de cadena pesada y una región variable

de cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 73 y 74, respectivamente.

[00264] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana (por ejemplo, IGHV3-33*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 89). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-33. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana.

[00265] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana (por ejemplo, IGKV3-15*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 90). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-15. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[00266] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una región variable de cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana (por ejemplo, IGHV3-33*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 89) y una región variable de cadena ligera que posee una secuencia de aminoácidos derivada de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 (por ejemplo, IGKV3-15*01, por ejemplo, que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 90). Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y CDRH2 de la región variable de cadena pesada (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRH1 y

CDRH2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGHV3-33 humana. Una o más regiones seleccionadas desde la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 de la cadena ligera (por ejemplo, dos, tres, cuatro o cinco de esas regiones) pueden derivarse de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana. En una realización, la cadena principal 1, la cadena principal 2, la cadena principal 3, CDRL1 y CDRL2 son todas derivadas de una secuencia de línea germinal IGKV3-15 humana.

[00267] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena pesada que posee una secuencia de aminoácidos seleccionada desde el grupo que consiste de SEQ ID N° 91 y 92. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 91. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena pesada que posee la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID N° 92.

[00268] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena ligera que posee la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 93.

[00269] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 91 y 92, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 93. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 91 y 93, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) comprende una cadena pesada y una cadena ligera que poseen las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 92 y 93, respectivamente.

[00270] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno compite por la ligación a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas

realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno compite por la ligación a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), con un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente.

[00271] En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga al mismo epítipo sobre PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) como un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74; 67 y 74; 68 y 74; 69 y 74; 70 y 74; 71 y 74; 72 y 74; ó 73 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga al mismo epítipo sobre PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) como un anticuerpo que comprende las secuencias de aminoácidos de región variable de cadena pesada y ligera establecidas en SEQ ID N° 66 y 74, respectivamente. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de PD-1 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 103. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de PD-1 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 104. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de PD-1 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 105. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de PD-1 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 106. En algunas realizaciones, la segunda región de ligación de antígeno se liga a un epítipo ubicado en una región de PD-1 humano, que consiste de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID N° 107.

[00272] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico aislado que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de la primera región de ligación de antígeno y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de la segunda región de ligación de antígeno comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 11. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico aislado que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se

liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de la primera región de ligación de antígeno y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 de la segunda región de ligación de antígeno comprenden, respectivamente, las secuencias de aminoácidos relacionadas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 78,

81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; ó 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85.

[00273] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico aislado que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la primera región de ligación de antígeno y la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la segunda región de ligación de antígeno comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 12. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo multiespecífico aislado que comprende una primera región de ligación de antígeno que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la primera región de ligación de antígeno y la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera de la segunda región de ligación de antígeno comprenden, respectivamente, las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1, 14, 67 y 74; 1, 16, 67 y 74; 1, 17, 67 y 74; 9, 14, 67 y 74; 9, 17, 67 y 74; 10, 15, 67 y 74; 10, 17, 67 y 74; 10, 18, 67 y 74; 10, 19, 67 y 74; 11, 15, 67 y 74; 11, 14, 67 y 74; 11, 16, 67 y 74; 11, 17, 67 y 74; 12, 14, 67 y 74; 12, 16, 67 y 74; 12, 17, 67 y 74; 12, 19, 67 y 74; 13, 15, 67 y 74; 13, 17, 67 y 74; 1, 14, 66 y 74; 1, 16, 66 y 74; 1, 17, 66 y 74; 9, 14, 66 y 74; 9, 17, 66 y 74; 10, 15, 66 y 74; 10, 17, 66 y 74; 10, 18, 66 y 74; 10, 19, 66 y 74; 11, 15, 66 y 74; 11, 14, 66 y 74; 11, 16, 66 y 74; 11, 17, 66 y 74; 12, 14, 66 y 74; 12, 16, 66 y 74; 12, 17, 66 y 74; 12, 19, 66 y 74; 13, 15, 66 y 74; 13, 17, 66 y 74; 1, 14, 68 y 74; 1, 16, 68 y 74; 1, 17, 68 y 74; 9, 14, 68 y 74; 9, 17, 68 y 74; 10, 15, 68 y 74; 10, 17, 68 y 74; 10, 18, 68 y 74; 10, 19, 68 y 74; 11, 15, 68 y 74; 11, 14, 68 y 74; 11, 16, 68 y 74; 11, 17, 68 y 74; 12, 14, 68 y 74; 12,

16, 68 y 74; 12, 17, 68 y 74; 12, 19, 68 y 74; 13, 15, 68 y 74; 13, 17, 68 y 74; 1, 14, 69 y 74; 1, 16, 69 y 74; 1, 17, 69 y 74; 9, 14, 69 y 74; 9, 17, 69 y 74; 10, 15, 69 y 74; 10, 17, 69 y 74; 10, 18, 69 y 74; 10, 19, 69 y 74; 11, 15, 69 y 74; 11, 14, 69 y 74; 11, 16, 69 y 74; 11, 17, 69 y 74; 12, 14, 69 y 74; 12, 16, 69 y 74; 12, 17, 69 y 74; 12, 19, 69 y 74; 13, 15, 69 y 74; 13, 17, 69 y 74; 1, 14, 70 y 74; 1, 16, 70 y 74; 1, 17, 70 y 74; 9, 14, 70 y 74; 9, 17, 70 y 74; 10, 15, 70 y 74; 10, 17, 70 y 74; 10, 18, 70 y 74; 10, 19, 70 y 74; 11, 15, 70 y 74; 11, 14, 70 y 74; 11, 16, 70 y 74; 11, 17, 70 y 74; 12, 14, 70 y 74; 12, 16, 70 y 74; 12, 17, 70 y 74; 12, 19, 70 y 74; 13, 15, 70 y 74; 13, 17, 70 y 74; 1, 14, 71 y 74; 1, 16, 71 y 74; 1, 17, 71 y 74; 9, 14, 71 y 74; 9, 17, 71 y 74; 10, 15, 71 y 74; 10, 17, 71 y 74; 10, 18, 71 y 74; 10, 19, 71 y 74; 11, 15, 71 y 74; 11, 14, 71 y 74; 11, 16, 71 y 74; 11, 17, 71 y 74; 12, 14, 71 y 74; 12, 16, 71 y 74; 12, 17, 71 y 74; 12, 19, 71 y 74; 13, 15, 71 y 74; 13, 17, 71 y 74; 1, 14, 72 y 74; 1, 16, 72 y 74; 1, 17, 72 y 74; 9, 14, 72 y 74; 9, 17, 72 y 74; 10, 15, 72 y 74; 10, 17, 72 y 74; 10, 18, 72 y 74; 10, 19, 72 y 74; 11, 15, 72 y 74; 11, 14, 72 y 74; 11, 16, 72 y 74; 11, 17, 72 y 74; 12, 14, 72 y 74; 12, 16, 72 y 74; 12, 17, 72 y 74; 12, 19, 72 y 74; 13, 15, 72 y 74; 13, 17, 72 y 74; 1, 14, 73 y 74; 1, 16, 73 y 74; 1, 17, 73 y 74; 9, 14, 73 y 74; 9, 17, 73 y 74; 10, 15, 73 y 74; 10, 17, 73 y 74; 10, 18, 73 y 74; 10, 19, 73 y 74; 11, 15, 73 y 74; 11, 14, 73 y 74; 11, 16, 73 y 74; 11, 17, 73 y 74; 12, 14, 73 y 74; 12, 16, 73 y 74; 12, 17, 73 y 74; 12, 19, 73 y 74; 13, 15, 73 y 74; ó 13, 17, 73 y 74.

[00274] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado según la presente invención puede reducir la actividad de CTLA-4 y/o PD-1 en al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente y/o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la actividad de CTLA-4 y/o PD-1 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1). En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) según la presente invención reduce la actividad de CTLA-4 y/o PD-1 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente y/o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la actividad de CTLA-4 y/o PD-1 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se

liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1). Ejemplos no limitantes de la actividad de CTLA-4 pueden incluir la señalización de CTLA-4, ligación de CTLA-4 a ligante CTLA-4 (por ejemplo, CD80 ó CD86), inhibición de la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) e inhibición de la proliferación de células T. Ejemplos no limitantes de la actividad de PD-1 pueden incluir la señalización de PD-1, ligación de PD-1 a ligante PD-1 (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2), inhibición de la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) e inhibición de la proliferación de células T. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un anticuerpo aislado que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) y desactiva, reduce o inhibe la actividad de CTLA-4 y/o PD-1. En realizaciones específicas, se determina la reducción de la actividad de CTLA-4 y/o PD-1 según lo descrito en los Ejemplos abajo.

[00275] En realizaciones específicas, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD1 aislado según la presente invención puede reducir la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86) y/o la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2) en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86), sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4) y/o con relación a la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2) sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1). En realizaciones específicas, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD1 aislado según la presente invención puede reducir la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86) en al menos 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la ligación de CTLA-4 a su ligante (por ejemplo, CD80 ó CD86), sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4) y/o puede reducir la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2) en por lo menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5

veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, con relación a la ligación de PD-1 a su ligante (por ejemplo, PD-L1 ó PD-L2) sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a PD-1).

[00276] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado según la presente invención puede antagonizar las funciones de CTLA-4 y/o PD-1, por ejemplo, estimulando la activación de células T. Un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado que comprende una combinación de secuencias de CDR especificadas en el presente, una combinación de secuencias de VH y/o VL que posee al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 98%, al menos 99% ó 100% de identidad de secuencias con una combinación de secuencias VH y/o VL especificadas en el presente o una combinación de cadenas pesadas y/o ligeras especificadas en el presente, por ejemplo, puede estimular la activación de células T, opcionalmente en que la activación de células T es una función substancialmente creciente de concentraciones de anticuerpos.

[00277] En realizaciones específicas, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado según la presente invención puede incrementar la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de citoquinas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1). En realizaciones específicas, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado según la presente invención puede incrementar la producción de citoquinas (por ejemplo, IL-2 ó IFN γ) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de citoquinas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1).

[00278] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo anti-

CTLA-4/PD-1 aislado que, aisladamente o en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab o tremelimumab), un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, nivolumab o pembrolizumab), un anticuerpo anti-TIGIT, un anticuerpo anti-CD137 (por ejemplo, urelumab o utomilumab), o un anticuerpo anti-OX40 (por ejemplo, pogalizumab o tavolixizumab) incrementa la producción de IL-2 en células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) humanas, en reacción al estímulo de Enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de IL-2 sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1).

[00279] En algunas realizaciones, células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) humanas estimuladas con enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) en la presencia de un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado descrito en el presente, aisladamente o en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, ipilimumab o tremelimumab), un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, nivolumab o pembrolizumab), un anticuerpo anti-TIGIT, un anticuerpo anti-CD137 (por ejemplo, urelumab o utomilumab) o un anticuerpo anti-OX40 (por ejemplo, pogalizumab o tavolixizumab) han incrementado la producción de IL-2 en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces o 100 veces con relación a PBMCs solo estimuladas con SEA, sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1), según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia.

[00280] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado que incrementa la producción de IFN γ de un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80

veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la producción de IFN γ de un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1).

[00281] En algunas realizaciones, un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas en la presencia de un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado según la presente invención ha incrementado la producción de IFN γ en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, con relación a un cocultivo de células T humanas y células dendríticas alogénicas sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1), según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia.

[00282] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado que incrementa la proliferación de células T en al menos cerca de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% ó 99% según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1). En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 aislado que incrementa la proliferación de células T en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1).

[00283] En realizaciones específicas, la presente invención suministra un anticuerpo anti-

CTLA-4/PD-1 aislado que incrementa la proliferación de células T CD4+ o CD8+ estimuladas por anticuerpos anti-CD3 en cocultivo con fluido de ascitis de cáncer de ovario en al menos cerca de 1,2 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 4,5 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 15 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces ó 100 veces, según lo determinado por los métodos descritos en el presente (véanse los Ejemplos abajo) o conocidos por los expertos en la materia, con relación a la proliferación de células T CD4+ o CD8+ estimuladas por anticuerpo anti-CD3 en cocultivo con fluido de ascitis de cáncer de ovario sin anticuerpo o con un anticuerpo no relacionado (por ejemplo, un anticuerpo que no se liga específicamente a CTLA-4 ó PD-1).

[00284] Un anticuerpo multiespecífico, por ejemplo, un anticuerpo biespecífico que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y/o PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) según la presente invención puede ser preparado por ligación química de dos anticuerpos monoclonales distintos o por fusión de dos líneas de células de hibridoma para producir un hibridoma híbrido. Otros formatos multivalentes que pueden utilizarse incluyen, por ejemplo, cuerpos K λ , dAbs, diacuerpos, TandAbs, nanocuerpos, SMIPs, DNLs, cuerpos de dominio elaborado de intercambio de líneas (SEEDcuerpos), Afficuerpos, Finómeros, dominios de Kunitz, Albu-dabs, DARTs, DVD-IG, cuerpos Covx, pepticuerpos, scFv-Igs, SVD-Igs, dAb-Igs, Perillas en Agujeros y triomAbs. Ejemplos de formatos biespecíficos son discutidos en Garber et al, *Nature Reviews Drug Discovery* 13: 799-801 (2014), que es integralmente incorporado al presente por referencia.

[00285] Ejemplos de moléculas de anticuerpos biespecíficos comprenden (i) un anticuerpo aislado que posee dos brazos que comprenden diferentes regiones de ligación de antígenos, uno con especificidad a un primer antígeno como CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y uno con especificidad para un segundo antígeno como PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano); (ii) un anticuerpo aislado que posee una región de ligación de antígeno o brazo específico para un primer antígeno como CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y una segunda región de ligación de antígeno o brazo específico para un segundo antígeno como PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano); (iii) un anticuerpo de cadena simple que posee primera especificidad a un primer antígeno como CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y segunda especificidad a un segundo antígeno como PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), por ejemplo, por dos scFvs ligados en

conjunto por un ligante de péptido adicional; (iv) un anticuerpo de dominio variable doble (DVD-Ig), en que cada cadena ligera y cadena pesada contiene dos regiones variables en conjunto por medio de una ligación de péptido corta (Wu et al, *Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig®) Molecule*, em: *Antibody Engineering*, Springer Berlín Heidelberg (2010)); (v) un fragmento de (Fab')₂ biespecífico químicamente ligado; (vi) Tandab, que es una fusión de dos diacuerpos de cadena simple que resultan en un anticuerpo biespecífico tetravalente que posee dos locales de ligación para cada uno de los antígenos blanco; (vii) un flexicuerpo, que es una combinación de scFvs con un diacuerpo que resulta en una molécula multivalente; (viii) una llamada molécula “conexión y traba”, con base en el “dominio de conexión y dimerización” en Quinase de Proteína A, que, al aplicarse a Fabs, puede generar una proteína de ligación biespecífica trivalente que consiste de dos fragmentos de Fab idénticos ligados a un fragmento de Fab distinto; (ix) una llamada molécula Scorpion, que comprende, por ejemplo, dos scFvs fundidos a ambos los terminales de un brazo Fab humano; y (x) un diacuerpo.

[00286] Ejemplos de distintas clases de anticuerpos biespecíficos incluyen, pero sin limitación, moléculas similares a IgG con dominios CH3 complementarios para forzar la heterodimerización; moléculas de orientación doble similares a IgG recombinante, en que cada uno de los dos lados de la molécula contiene el fragmento de Fab o parte del fragmento de Fab de al menos dos anticuerpos distintos; moléculas de fusión de IgG, en que los anticuerpos de IgG con longitud total son fundidos a fragmentos de Fab adicionales o partes de fragmento de Fab; moléculas de fusión de Fc, en que las moléculas de Fv de cadena simple o diacuerpos estabilizados son fundidos a dominios constantes de cadena pesada, regiones Fc o sus partes; moléculas de fusión de Fab, en que distintos fragmentos de Fab son fundidos entre ellos; anticuerpos de cadena pesada y con base en diacuerpo y ScFv (por ejemplo, anticuerpos de dominio y nanocuerpos), en que distintas moléculas Fv de cadena simple o distintos diacuerpos o distintos anticuerpos de cadena pesada (por ejemplo, anticuerpos de dominio, nanocuerpos) son fundidos entre ellos o a una otra proteína o molécula portadora.

[00287] Ejemplos de anticuerpos biespecíficos de fusión de Fab incluyen, pero no se limitan a F(ab)₂ (Medarex/AMGEN), acción doble o Bis-Fab (Genentech), Conexión y Traba (DNL) (ImmunoMedics), biespecífico bivalente (Biotechnol) y Fab-Fv (UCB-Celltech). Ejemplos de anticuerpos de dominio y con base en diacuerpos ScFv incluyen, pero no se limitan a

Incentivador de Células T Biespecíficas (BITE) (Micromet), Diacuerpo Conjunto (Tandab) (Affimed), Tecnología de Reorientación de Afinidad Doble (DART) (MacroGenics), Diacuerpo de Cadena Simple (Academic), Anticuerpos similares a TCR (AIT, ReceptorLogics), Fusión de ScFv de Albumina de Suero Humano (Merrimack) y COMBODY (Epigen Biotech), nanocuerpos de orientación doble (Ablynx) e anticuerpos solo de dominio de cadena pesada de orientación doble.

6.2.4 Regiones constantes.

[00288] Cualquier región constante de cadena pesada o cadena ligera puede utilizarse en los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) descritos en el presente. En algunas realizaciones, los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) descritos en el presente comprenden una región Ig que es una molécula de inmunoglobulina IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY humana, cualquier clase (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂), o cualquier subclase (por ejemplo, IgG_{2a} e IgG_{2b}) de molécula de inmunoglobulina.

[00289] En algunas realizaciones, los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) descritos en el presente comprenden una región constante de cadena pesada de IgG humano que es una variante de una región constante de cadena pesada de IgG humano del tipo salvaje, en que la región constante de cadena pesada de IgG humana variante se liga a receptores de Fc gama humanos con afinidad más alta que la región constante de cadena pesada de IgG humano del tipo salvaje se liga a los receptores de Fc gama humanos.

[00290] En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende una o más de las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S239D, A330L e I332E. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S239D e I332E. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₁ humana variante que comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S239D e I332E. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG1 humana variante comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S239D, A330L e I332E. En

algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₁ humana variante que comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S239D, A330L e I332E.

[00291] En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende una o más de las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: L235V, F243L, R292P, Y300L y P396L. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: L235V, F243L, R292P, Y300L y P396L. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₁ humana variante que comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: L235V, F243L, R292P, Y300L y P396L.

[00292] En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende una o más de las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: G236A, S239D, F243L, T256A, K290A, R292P, S298A, Y300L, V305I, A330L, I332E, E333A, K334A, A339T y P396L. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende un conjunto de mutaciones de aminoácidos seleccionados desde el grupo que consiste de: S239D; T256A; K290A; S298A; I332E; E333A; K334A; A339T; S239D e I332E; S239D, A330L e I332E; S298A, E333A e K334A; G236A, S239D e I332E; y F243L, R292P, Y300L, V305I y P396L, numerados según el sistema de numeración EU. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende mutaciones de aminoácidos S267E o L328F, numeradas según el sistema de numeración UE: En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S267E y L328F. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₁ humana variante que comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: S267E y L328F. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende mutaciones de aminoácidos P238D, numeradas según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₁ humana variante que comprende

la mutación de aminoácido P238D, numerada según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende una o más de las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: P238D, E233D, G237D, H268D, P271G y A330R. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: P238D, E233D, G237D, H268D, P271G y A330R. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₁ humana variante que comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos, numeradas según el sistema de numeración UE: P238D, E233D, G237D, H268D, P271G y A330R. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende mutaciones de aminoácidos C127S, numeradas según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante es una región constante de cadena pesada IgG₂ humana variante que comprende las siguientes mutaciones de aminoácidos C127S, numeradas según el sistema de numeración UE.

[00293] En algunas realizaciones, los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) suministrados en el presente comprenden una región Fc afucosilada.

[00294] En algunas realizaciones, los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) descritos en el presente comprenden una región constante de cadena pesada de IgG humano que es una variante de una región constante de cadena pesada de IgG humano del tipo salvaje, en que la región constante de cadena pesada de IgG humana variante se liga a receptores de Fc gama humanos con afinidad más alta que la región constante de cadena pesada de IgG humano del tipo salvaje se liga a receptores de Fc gama humanos. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende una mutación seleccionada desde el grupo que consiste de N297A, N297Q, D265A y una de sus combinaciones, numeradas según el sistema de numeración UE. En algunas realizaciones, la región constante de cadena pesada IgG humana variante comprende una mutación seleccionada desde el grupo que consiste de D265A, P329A y una de sus combinaciones, numeradas según el sistema de numeración UE.

[00295] En algunas realizaciones, una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) son introducidas en la región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo

monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente (por ejemplo, dominio CH2 (residuos 231-240 de IgG₁ humano) y/o dominio CH3 (residuos 341-447 de IgG₁ humano) y/o la región de articulación numerada según el sistema de numeración UE para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico), como media vida en suero, fijación de complemento, ligación de receptor Fc y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.

[00296] En algunas realizaciones, una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) se introducen en la región de articulación de la región Fc (dominio CH1), de forma a alterar la cantidad de residuos de cisteína en la región de articulación (por ejemplo, incrementar o reducir), según lo descrito, por ejemplo, en la Patente Norteamericana n° 5.677.425. La cantidad de residuos de cisteína en la región de articulación del dominio CH1 puede alterarse, por ejemplo, para facilitar la preparación de las cadenas ligeras y pesadas, o para alterar (por ejemplo, incrementar o reducir) la estabilidad del anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico).

[00297] En algunas realizaciones, una, dos o más mutaciones (por ejemplo, sustituciones de aminoácidos) son introducidas na región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente (por ejemplo, dominio CH2 (residuos 231-240 de IgG₁ humano) y/o dominio CH3 (residuos 341-447 de IgG₁ humano) y/o la región de articulación numerada según el sistema de numeración UE para incrementar o reducir la afinidad del anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico), para un receptor Fc (por ejemplo, un receptor Fc activado) sobre la superficie de una célula efectora. Mutaciones en la región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) que reducen o incrementan la afinidad de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) para un receptor Fc y métodos de introducción de dichas mutaciones en el receptor Fc o su fragmento son conocidas por los expertos en la materia. Ejemplos de mutaciones en el receptor Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) que puede alterar la afinidad del anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) para un receptor Fc son descritos, por ejemplo, en Smith, P. et al (2012), *PNAS* 109: 6181-6186, Patente Norteamericana n° 6.737.056 y las Patentes Internacionales n° WO 02/060919; WO 98/23289; e WO 97/34631, que son incorporadas al presente por referencia.

[00298] En una realización específica, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (o sea, substituciones, inserciones o exclusiones) se introducen en un dominio constante de IgG o su fragmento de ligación de FcRn (por ejemplo, Fc o fragmento de dominio Fc-articulación) para alterar (por ejemplo, reducir o incrementar) la media vida de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) *in vivo*. Véanse, por ejemplo, las Patentes Internacionales n° WO 02/060919; WO 98/23289; y WO 97/34631; y las Patentes Norteamericanas n° 5.869.046, 6.121.022, 6.277.375 y 6.165.745 para ejemplos de mutaciones que alterarán (por ejemplo, reducirán o incrementarán) la media vida de un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) *in vivo*. En algunas realizaciones, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (o sea, substituciones, inserciones o exclusiones) se introducen en un dominio constante de IgG o su fragmento de ligación de FcRn (por ejemplo, Fc o fragmento de dominio Fc-articulación) para reducir la media vida del anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) *in vivo*. En otras realizaciones, una, dos o más mutaciones de aminoácidos (o sea, substituciones, inserciones o exclusiones) se introducen en un dominio constante de IgG o su fragmento de ligación de FcRn (por ejemplo, Fc o fragmento de dominio Fc-articulación) para incrementar la media vida del anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) *in vivo*. En una realización específica, los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) pueden tener una o más mutaciones de aminoácidos (por ejemplo, substituciones) en el segundo dominio constante (CH2) (residuos 231-340 de IgG₁ humano) y/o el tercer dominio constante (CH3) (residuos 341-447 de IgG₁ humano), numerados según el sistema de numeración EU. En una realización específica, la región constante del IgG1 de un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente comprende una substitución de metionina (M) por tirosina (Y) en la posición 252, una substitución de serina (S) por treonina (T) en la posición 254 y una substitución de treonina (T) por ácido glutámico en la posición 256, numerada según el sistema de numeración EU. Véase la Patente Norteamericana n° 7.658.921, que es incorporada al presente por referencia. Se ha demostrado que esta clase de IgG mutante, denominada “mutante YTE”, exhibe media vida incrementada cuatro veces, en comparación con las versiones del tipo salvaje del mismo anticuerpo (véase Dall’Acqua, W. F. et al (2006), *J. Biol. Chem.* 281: 23514-24). En algunas realizaciones, un anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) comprende un dominio constante de IgG que comprende una,

dos, tres o más sustituciones de aminoácidos de residuos de aminoácidos en las posiciones 251-257, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436, numeradas según el sistema de numeración EU.

[00299] En algunas realizaciones, uno o más aminoácidos seleccionados desde los residuos de aminoácidos 329, 331 y 322 en la región constante de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente, numerado según el sistema de numeración EU, pueden substituirse por un residuo de aminoácido distinto, de tal forma que el anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) posea ligación C1q alterada y/o citotoxicidad dependiente de complemento reducida o abolida (CDC). Este enfoque se describe con más detalles en la Patente Norteamericana n° 6.194.551 (Idusogie et al). En algunas realizaciones, uno o más residuos de aminoácidos en las posiciones de aminoácidos 231 a 238 en la región N-terminal del dominio CH2 de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente se cambian para así cambiar la capacidad del anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) para fijar el complemento. Este enfoque se describe adicionalmente na Patente Internacional n° WO 94/29351. Em algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente se modifica para incrementar la capacidad del anticuerpo (por ejemplo, anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) de mediar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) y/o de incrementar la afinidad del anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) para un receptor Fcγ por mutación de uno o más aminoácidos (por ejemplo, introduciendo sustituciones de aminoácidos) en las siguientes posiciones: 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 ó 439, numerados según el sistema de numeración EU. Este enfoque se describe adicionalmente na Patente Internacional n° WO 00/42072.

[00300] En algunas realizaciones, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente comprende la región constante de un anticuerpo IgG₄ y la serina en el residuo de aminoácido 228 de la cadena pesada, numerado según el sistema de numeración UE, es substituida por prolina.

[00301] En algunas realizaciones, un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico

o multiespecífico) descrito en el presente comprende la región constante de un anticuerpo IgG₂ y la cisteína en el residuo de aminoácido 127 de la cadena pesada, numerado según el sistema de numeración UE, es substituida por serina.

[00302] Se ha relatado que anticuerpos con contenido reducido de fucosa poseen afinidad más alta para receptores Fc, como, por ejemplo, FcγRIIIa. Consecuentemente, en algunas realizaciones, los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) descritos en el presente poseen contenido de fucosa reducido o no poseen contenido de fucosa. Esos anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) pueden producirse utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia. Los anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos), por ejemplo, pueden expresarse en células con deficiencia o que no poseen la capacidad de fucosilación. En un ejemplo específico, las líneas celulares con knockout de ambos los alelos de α-1,6-fucosiltransferase pueden utilizarse para producir anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) con contenido de fucosa reducido. O sistema Potelligent® (Lonza) es un ejemplo de ese sistema que puede utilizarse para producir anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) con contenido de fucosa reducido. Alternativamente, anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) con contenido de fucosa reducido o sin contenido de fucosa pueden producirse, por ejemplo, por: (i) cultivo de células bajo condiciones que eviten o reduzcan la fucosilación; (ii) remoción post-traducción de fucosa (por ejemplo, con una enzima fucosidasa); (iii) adición post-traducción del carbohidrato deseado, por ejemplo, luego de la expresión recombinante de una glicoproteína no glicosilada; o (iv) purificación de la glicoproteína, de forma a seleccionar sus anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) que no sean fucosilados. Véanse, por ejemplo, Longmore, G. D. y Schachter, H. (1982), *Carbohydr. Res.* 100: 365-92 e Imai-Nishiya, H. et al (2007), *BMC Biotechnol.* 7: 84 para métodos de producción de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos) sin contenido de fucosa o con contenido de fucosa reducido.

[00303] Las glicoformas elaboradas pueden ser útiles para una serie de propósitos, incluyendo, pero sin limitación, el incremento o la reducción de la función efectora. Métodos de generación de glicoformas elaboradas en anticuerpos (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descritos en el presente incluyen, pero sin limitación, los

descritos, por ejemplo, en Umaña, P. et al (1999), *Nat. Biotechnol.* 17: 176-180; Davies, J. et al (2001), *Biotechnol. Bioeng.* 74: 288-294; Shields, R. L. et al (2002), *J. Biol. Chem.* 277: 26733-26740; Shinkawa, T. et al (2003), *J. Biol. Chem.* 278: 3466-3473; Niwa, R. et al (2004), *Clin. Cancer Res.* 1: 6248-6255; Presta, L. G. et al (2002), *Biochem. Soc. Trans.* 30: 487-490; Kanda, Y. et al (2007), *Glycobiology* 17: 104-118; Patentes Norteamericanas nº 6.602.684, 6.946.292 y 7.214.775; Patentes Norteamericanas nº US 2007/0248600; 2007/0178551; 2008/0060092; y 2006/0253928; Patentes Internacionales nº WO 00/61739; WO 01/292246; WO 02/311140; y WO 02/30954; tecnología Potillegent® (Biowa, Inc., Princeton, NJ); y tecnología de ingeniería de glicosilación GlycoMAb® (Glycart Biotechnology AG, Zúrich, Suiza). Véanse también, por ejemplo, Ferrara, C. et al (2006), *Biotechnol. Bioeng.* 93: 851-861; Patentes Internacionales nº WO 07/039818, WO 12/130831, WO 99/054342, WO 03/011878 y WO 04/065540.

[00304] En algunas realizaciones, la tecnología utilizada para elaborar el dominio Fc de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente es la tecnología Xmab® de Xencor (Monrovia CA). Véanse, por ejemplo, las Patentes Norteamericanas nº 8.367.805, 8.039.592, 8.124.731, 8.188.231; Patente Norteamericana publicada nº 2006/0235208; las Patentes Internacionales nº WO 05/077981; WO 11/097527; y Richards, J. O. et al (2008), *Mol. Cancer Ther.* 7: 2517-2527.

[00305] En algunas realizaciones, cualesquiera de las mutaciones o modificaciones de las regiones constantes descritas en el presente pueden introducirse en una o ambas las regiones constantes de cadena pesada de un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo monoespecífico o multiespecífico) descrito en el presente que posea dos regiones constantes de cadena pesada.

6.3 Composiciones Farmacéuticas.

[00306] El presente suministra composiciones que comprenden un anticuerpo anti-CTLA-4, un anticuerpo anti-PD-1 y/o un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente que posee el grado de pureza deseado en un vehículo, excipiente o estabilizante fisiológicamente aceptable (*Remington's Pharmaceutical Sciences* (1990), Mack Publishing Co., Easton PA).

[00307] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente. La composición farmacéutica puede comprender cualquier combinación de un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un primer anticuerpo que se liga

específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 11. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo y la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 12.

[00308] En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo descrito en el presente. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz de una combinación terapéutica que comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente. La cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esa combinación terapéutica puede ser menor, igual o más alta que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-CTLA-4 administradas aisladamente y la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 en esta combinación terapéutica puede ser menor, igual o más alta que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esta combinación terapéutica es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 en esta combinación terapéutica es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esa combinación terapéutica es menor que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrada aisladamente y la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 en esta combinación terapéutica es menor que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente.

[00309] Vehículos, excipientes o estabilizantes aceptables son atóxicos para pacientes en las dosis y concentraciones empleadas e incluyen tampones como fosfato, citrato y otros ácidos

orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (como cloruro de octadecildimetilbenzil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio; alcohol fenólico, butílico o bencílico; alquil parabenos, como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos con bajo peso molecular (menos de cerca de 10 residuos); proteínas, como albumina de suero, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, como polivinilpirrolidona; aminoácidos, como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes, como EDTA; azúcares, como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sal como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de proteína y Zn); y/o surfactantes no iónicos, como TWEEN®, PLURONICS® o polietileno glicol (PEG).

[00310] Una composición farmacéutica puede formularse para cualquier vía de administración a pacientes. Ejemplos específicos de vías de administración incluyen intranasal, oral, pulmonar, transdérmica, intradérmica y parenteral. La administración parenteral, caracterizada por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa, también se contempla en el presente. Inyectables pueden prepararse en formas convencionales, ya sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas apropiadas para solución o suspensión en líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los inyectables, soluciones y emulsiones, también contienen uno o más excipientes. Los excipientes apropiados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Adicionalmente, si deseado, las composiciones farmacéuticas a administrarse pueden también contener pequeñas cantidades de sustancias auxiliares no tóxicas como agentes humectantes o emulsificantes, agentes tamponadores del pH, estabilizantes, potenciadores de la solubilidad y otros agentes similares, como, por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitan, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas.

[00311] Los vehículos farmacéuticamente aceptables utilizados en preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsificantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de vehículos acuosos incluyen inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringers, inyección de dextrosa isotónica, inyección de agua estéril, dextrosa e inyección de Ringers lactada. Vehículos parenterales no acuosos incluyen aceites fijos de origen vegetal,

aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo y aceite de maní. Agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas pueden adicionarse a preparaciones parenterales embaladas en recipientes con varias dosis que incluyen fenoles o cresoles, mercuriales, alcohol bencílico, clorobutanol, ésteres de ácido metil y propil p-hidroxibenzoico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de benzetonio. Agentes isotónicos incluyen cloruro de sodio y dextrosa. Tampones incluyen fosfato y citrato. Antioxidantes incluyen bisulfato de sodio. Anestésicos locales incluyen clorhidrato de procaína. Agentes de dispersión y suspensión incluyen carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropil metilcelulosa y polivinilpirrolidona. Agentes emulsificantes incluyen Polisorbato 80 (TWEEN® 80). Un agente secuestrante o quelante de iones metálicos incluye EDTA. Vehículos farmacéuticos también incluyen alcohol etílico, polietileno glicol y propileno glicol para vehículos miscibles en agua; e hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para ajuste de pH.

[00312] Las preparaciones para administración parenteral de un anticuerpo incluyen soluciones estériles listas para inyección, productos solubles secos estériles, como polvos liofilizados, listos para combinación con solvente luego antes del uso, incluyendo tabletas hipodérmicas, suspensiones estériles listas para inyección, productos insolubles secos estériles listos para combinación con vehículo luego antes del uso y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser acuosas o no acuosas.

[00313] De administrarse por vía intravenosa, los vehículos apropiados incluyen solución salina fisiológica o solución salina tamponada con fosfato (PBS) y soluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, como glucosa, polietileno glicol, polipropileno glicol y sus mezclas.

[00314] Una composición farmacéutica descrita en el presente puede formularse como aerosol para aplicación tópica, como, por ejemplo, por inhalación (véanse, por ejemplo, las Patentes Norteamericanas n° 4.044.126, 4.414.209 y 4.364.923, que describen aerosoles para suministro de un esteroide útil para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, particularmente asma). Dichas formulaciones para administración al tracto respiratorio pueden presentarse en la forma de aerosol o solución para nebulizador, o como polvo microfino para insuflaciones, aisladamente o en combinación con un vehículo inerte como lactosa. En este caso, las partículas de la formulación, en una realización, tendrán diámetros de menos de 50 micrones y, en una realización, menos de 10 micrones.

[00315] Una composición farmacéutica descrita en el presente puede formularse para aplicación local o tópica, como para aplicación tópica a la piel y membranas mucosas, por ejemplo en los ojos, en forma de gel, crema y lociones y para aplicación a los ojos o para aplicación intracisterna o intraespinal. La administración tópica se contempla para suministro transdérmico y también para administración a los ojos o la mucosa, o para terapias inhalatorias. Soluciones nasales del anticuerpo aislado o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables también pueden administrarse.

[00316] Mezclas tópicas que comprenden un anticuerpo son preparadas según lo descrito para administración local y sistémica. La mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsión o similar y puede formularse como crema, gel, pomada, emulsiones, soluciones, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, sprays, supositorios, vendas, parches dérmicos o cualquier otra formulación apropiada para administración tópica.

[00317] Parches transdérmicos, incluyendo dispositivos iontoforéticos y electroforéticos, son bien conocidos de los expertos en la materia y pueden utilizarse para la administración de anticuerpos. Esos parches se describen, por ejemplo, en las Patentes Norteamericanas n° 6.267.983, 6.261.595, 6.256.533, 6.167.301, 6.024.975, 6.010.715, 5.985.317, 5.983.134, 5.948.433 y 5.860.957.

[00318] En algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o su fragmento de ligación de antígeno descrito en el presente es un polvo liofilizado, que puede reconstituirse para administración como solución, emulsión y otras mezclas. El puede también reconstituirse y formularse como sólido o gel. El polvo liofilizado se prepara por medio de la disolución de un anticuerpo o su fragmento de ligación de antígenos descrito en el presente o uno de sus derivados farmacéuticamente aceptables en un solvente apropiado. En algunas realizaciones, el polvo liofilizado es estéril. El solvente puede contener un excipiente que incrementa la estabilidad u otros componentes farmacológicos del polvo o de la solución reconstituida, preparado con el polvo. Los excipientes que pueden utilizarse incluyen, pero sin limitación, dextrosa, sorbitol, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente apropiado. El solvente puede también contener un tampón, como citrato, fosfato de sodio o potasio u otro tampón conocido por los expertos en la materia, en una realización, a pH cerca de neutro. Filtración estéril subsiguiente de la solución, seguida por liofilización bajo

condiciones estándar conocidas por los expertos en la materia, suministra la formulación deseada. En una realización, la solución resultante se repartirá en ampollas para liofilización. Cada ampolla contendrá una sola dosis o varias dosis del compuesto. El polvo liofilizado puede almacenarse bajo condiciones apropiadas, como cerca de 4 °C a la temperatura ambiente. La reconstitución de dicho polvo liofilizado con agua para inyección suministra una formulación para uso en administración parenteral. Para la reconstitución, el polvo liofilizado se adiciona a agua estéril u otro vehículo apropiado. La cantidad precisa depende del compuesto seleccionado. Dicha cantidad puede determinarse empíricamente.

[00319] Una composición farmacéutica descrita en el presente puede también formularse para dirigirse a un tejido específico, receptor u otra área del cuerpo del paciente a tratarse. Varios de esos métodos de orientación son bien conocidos de los expertos en la materia. Todos esos métodos de orientación son contemplados en el presente para uso en las composiciones del presente. Para ejemplos no limitantes de métodos de orientación, véanse, por ejemplo, las Patentes Norteamericanas nº 6.316.652, 6.274.552, 6.271.359, 6.253.872, 6.139.865, 6.131.570, 6.120.751, 6.071.495, 6.060.082, 6.048.736, 6.039.975, 6.004.534, 5.985.307, 5.972.366, 5.900.252, 5.840.674, 5.759.542 y 5.709.874. En una realización específica, una composición farmacéutica descrita en el presente se dirige a un tumor.

[00320] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden un anticuerpo anti-CTLA-4, un anticuerpo anti-PD-1 y/o un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente y, opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, el anticuerpo es el único ingrediente activo incluido en la composición farmacéutica.

[00321] En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden una cantidad eficaz de uno o más anticuerpos descritos en el presente y, opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales, en un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[00322] Las composiciones a utilizarse para administración *in vivo* pueden ser estériles. Eso se realiza fácilmente por filtración, por ejemplo, a través de membranas de filtración estériles.

6.4 Métodos de uso y usos:

[00323] En un aspecto, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes que utiliza un anticuerpo anti-CTLA-4, un anticuerpo anti-PD-1 y/o un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1) descrito en el presente. En

algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes utilizando un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes utilizando una combinación terapéutica que comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente, opcionalmente en la ausencia de terapia concomitante para tratar la misma enfermedad o afección. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes utilizando un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente como monoterapia. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes utilizando un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente como monoterapia.

[00324] La composición terapéutica puede comprender cualquier combinación de un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 11. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo comprenden, respectivamente, las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 81, 83,

84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 76, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 76, 82, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 77, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 78, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 32, 37, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 29, 33, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85; ó 21, 22, 26, 29, 35, 38, 75, 79, 81, 83, 84 y 85.

[00325] En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo y la región variable de

cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 12. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo y la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1, 14, 67 y 74; 1, 16, 67 y 74; 1, 17, 67 y 74; 9, 14, 67 y 74; 9, 17, 67 y 74; 10, 15, 67 y 74; 10, 17, 67 y 74; 10, 18, 67 y 74; 10, 19, 67 y 74; 11, 15, 67 y 74; 11, 14, 67 y 74; 11, 16, 67 y 74; 11, 17, 67 y 74; 12, 14, 67 y 74; 12, 16, 67 y 74; 12, 17, 67 y 74; 12, 19, 67 y 74; 13, 15, 67 y 74; 13, 17, 67 y 74; 1, 14, 66 y 74; 1, 16, 66 y 74; 1, 17, 66 y 74; 9, 14, 66 y 74; 9, 17, 66 y 74; 10, 15, 66 y 74; 10, 17, 66 y 74; 10, 18, 66 y 74; 10, 19, 66 y 74; 11, 15, 66 y 74; 11, 14, 66 y 74; 11, 16, 66 y 74; 11, 17, 66 y 74; 12, 14, 66 y 74; 12, 16, 66 y 74; 12, 17, 66 y 74; 12, 19, 66 y 74; 13, 15, 66 y 74; 13, 17, 66 y 74; 1, 14, 68 y 74; 1, 16, 68 y 74; 1, 17, 68 y 74; 9, 14, 68 y 74; 9, 17, 68 y 74; 10, 15, 68 y 74; 10, 17, 68 y 74; 10, 18, 68 y 74; 10, 19, 68 y 74; 11, 15, 68 y 74; 11, 14, 68 y 74; 11, 16, 68 y 74; 11, 17, 68 y 74; 12, 14, 68 y 74; 12, 16, 68 y 74; 12, 17, 68 y 74; 12, 19, 68 y 74; 13, 15, 68 y 74; 13, 17, 68 y 74; 1, 14, 69 y 74; 1, 16, 69 y 74; 1, 17, 69 y 74; 9, 14, 69 y 74; 9, 17, 69 y 74; 10, 15, 69 y 74; 10, 17, 69 y 74; 10, 18, 69 y 74; 10, 19, 69 y 74; 11, 15, 69 y 74; 11, 14, 69 y 74; 11, 16, 69 y 74; 11, 17, 69 y 74; 12, 14, 69 y 74; 12, 16, 69 y 74; 12, 17, 69 y 74; 12, 19, 69 y 74; 13, 15, 69 y 74; 13, 17, 69 y 74; 1, 14, 70 y 74; 1, 16, 70 y 74; 1, 17, 70 y 74; 9, 14, 70 y 74; 9, 17, 70 y 74; 10, 15, 70 y 74; 10, 17, 70 y 74; 10, 18, 70 y 74; 10, 19, 70 y 74; 11, 15, 70 y 74; 11, 14, 70 y 74; 11, 16, 70 y 74; 11, 17, 70 y 74; 12, 14, 70 y 74; 12, 16, 70 y 74; 12, 17, 70 y 74; 12, 19, 70 y 74; 13, 15, 70 y 74; 13, 17, 70 y 74; 1, 14, 71 y 74; 1, 16, 71 y 74; 1, 17, 71 y 74; 9, 14, 71 y 74; 9, 17, 71 y 74; 10, 15, 71 y 74; 10, 17, 71 y 74; 10, 18, 71 y 74; 10, 19, 71 y 74; 11, 15, 71 y 74; 11, 14, 71 y 74; 11, 16, 71 y 74; 11, 17, 71 y 74; 12, 14, 71 y 74; 12, 16, 71 y 74; 12, 17, 71 y 74; 12, 19, 71 y 74; 13, 15, 71 y 74; 13, 17, 71 y 74; 1, 14, 72 y 74; 1, 16, 72 y 74; 1, 17, 72 y 74; 9, 14, 72 y 74; 9, 17, 72 y 74; 10, 15, 72 y 74; 10, 17, 72 y 74; 10, 18, 72 y 74; 10, 19, 72 y 74; 11, 15, 72 y 74; 11, 14, 72 y 74; 11, 16, 72 y 74; 11, 17, 72 y 74; 12, 14, 72 y 74; 12, 16, 72 y 74; 12, 17, 72 y 74; 12, 19, 72 y 74; 13, 15, 72 y 74; 13, 17, 72 y 74; 1, 14, 73 y 74; 1, 16, 73 y 74; 1, 17, 73 y 74; 9, 14, 73 y 74; 9, 17, 73 y 74; 10, 15, 73 y 74; 10, 17, 73 y 74; 10, 18, 73 y 74; 10, 19, 73 y 74; 11, 15, 73 y 74; 11, 14,

73 y 74; 11, 16, 73 y 74; 11, 17, 73 y 74; 12, 14, 73 y 74; 12, 16, 73 y 74; 12, 17, 73 y 74; 12, 19, 73 y 74; 13, 15, 73 y 74; ó 13, 17, 73 y 74.

[00326] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes utilizando una combinación terapéutica que comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁)) y un anticuerpo anti-PD-1 (por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1 antagonista), opcionalmente en la ausencia de terapia concomitante para tratar la misma enfermedad o afección. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, también conocido como BMS-936558 ó MDX1106, desarrollado por la Bristol-Myers Squibb. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab, también conocido como lambrolizumab o MK-3475, desarrollado por Merck & Co. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pidilizumab, también conocido como CT-011, desarrollado por CureTech. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es MEDI0680, también conocido como AMP-514, desarrollado por Medimmune. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es PDR001 desarrollado por Novartis Pharmaceuticals. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es REGN2810 desarrollado por Regeneron Pharmaceuticals. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es PF-06801591 desarrollado por Pfizer. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es BGB-A317 desarrollado por BeiGene. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es TSR-042 desarrollado por AnaptysBio y Tesaro. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es SHR-1210 desarrollado por Hengrui. En algunas realizaciones, el anti-CTLA-4 es AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab.

[00327] Ejemplos no limitantes adicionales de anticuerpos anti-PD-1 que pueden utilizarse en los métodos de tratamiento descritos en el presente son descritos en las siguientes patentes y pedidos de patentes, que se incorporan integralmente al presente por referencia para todos los propósitos: Patente Norteamericana n° 6.808.710; Patente Norteamericana n° 7.332.582; Patente Norteamericana n° 7.488.802; Patente Norteamericana n° 8.008.449; Patente Norteamericana n° 8.114.845; Patente Norteamericana n° 8.168.757; Patente Norteamericana n° 8.354.509; Patente Norteamericana n° 8.686.119; Patente Norteamericana n° 8.735.553; Patente Norteamericana n° 8.747.847; Patente Norteamericana n° 8.779.105; Patente Norteamericana n° 8.927.697; Patente Norteamericana n° 8.993.731; Patente Norteamericana n° 9.102.727; Patente Norteamericana n° 9.205.148; Patente Norteamericana Publicada n° US 2013/0202623 A1; Patente Norteamericana

Publicada nº US 2013/0291136 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2014/0044738 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2014/0356363 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2016/0075783 A1; y Patente PCT nº WO 2013/033091 A1; Patente PCT nº WO 2015/036394 A1; Patente PCT nº WO 2014/179664 A2; Patente PCT nº WO 2014/209804 A1; Patente PCT nº WO 2014/206107 A1; Patente PCT nº WO 2015/058573 A1; Patente PCT nº WO 2015/085847 A1; Patente PCT nº WO 2015/200119 A1; Patente PCT nº WO 2016/015685 A1; y Patente PCT nº WO 2016/020856 A1.

[00328] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes utilizando una combinación terapéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P)) y un anticuerpo anti-CTLA-4 (por ejemplo, un anticuerpo anti-CTLA-4 antagonista), opcionalmente en la ausencia de terapia concomitante para tratar la misma enfermedad o afección. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es ipilimumab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es tremelimumab.

[00329] Cualquier enfermedad o afección en pacientes que se beneficiarían de la inhibición de la función de CTLA-4 y/o PD-1 puede tratarse utilizando los anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composición farmacéutica descrita en el presente. Los anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente son particularmente útiles para la inhibición de la tolerancia del sistema inmunológico a tumores y, consecuentemente, pueden utilizarse como inmunoterapia para pacientes con cáncer. En algunas realizaciones, por ejemplo, la presente invención suministra un método de incremento de la activación de células T en reacción a un antígeno en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica según la presente invención. En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de cáncer en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica según la presente invención.

[00330] Los cánceres que pueden tratarse con los anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente incluyen, sin limitaciones, cáncer sólido (por ejemplo, cáncer sólido refractario o en recaída y cáncer sólido avanzado o metastático), carcinoma, sarcoma, melanoma (por ejemplo, melanoma en nivel III o nivel IV), cáncer de

pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer urotelial, cáncer de ovario, cáncer de la próstata (por ejemplo, cáncer de la próstata refractario a hormona metastática y cáncer de la próstata metastático progresivo), cáncer pancreático, cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama HER2⁺ (por ejemplo, cáncer de mama HER2⁺ refractario/en recaída)), cáncer de la cabeza y del cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas de la cabeza y del cuello refractario/en recaída (HNSCC)), glioma, glioma maligno, glioblastoma multiforme, metástasis del cerebro, cáncer de Merkel, cáncer gástrico, cáncer gastroesofágico, carcinoma de las células renales, melanoma uveal, cáncer de colon, cáncer cervical, linfoma (por ejemplo, linfoma refractario o en recaída), linfoma no de Hodgkin, linfoma de Hodgkin, leucemia y mieloma múltiple. En algunas realizaciones, el cáncer es tratado con la administración intratumoral de un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente. Los cánceres que pueden tratarse con la administración intratumoral de los anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente incluyen, sin limitación, tumores sólidos (por ejemplo, tumores sólidos metastáticos o avanzados), cáncer de la cabeza y del cuello (por ejemplo, carcinoma de las células escamosas de la cabeza y del cuello refractario/en recaída (HNSCC)) y cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama HER2⁺ (por ejemplo, cáncer de mama HER2⁺ refractario/en recaída)).

[00331] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido). En algunas realizaciones, el cáncer es tratado según un método descrito en el presente como primera terapia de cáncer luego del diagnóstico del tumor metastático o local avanzado (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5, ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico). En algunas realizaciones, el cáncer es tratado según un método descrito en el presente como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de la progresión de tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de la progresión del tumor) que haya ocurrido a pesar de tratamiento anterior del tumor con terapia de cáncer distinta, opcionalmente en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el cáncer es tratado según un método descrito en el presente como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3,

4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta), opcionalmente en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) para el cual no es disponible terapia estándar. En otras realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) para el cual la terapia estándar ha fallado (o sea, el cáncer ha progresado luego de la terapia estándar). En algunas realizaciones, la terapia falla si el cáncer es refractario a la terapia. En algunas realizaciones, la terapia falla si el cáncer sufre recaída luego de la reacción, total o parcial, a la terapia. En algunas realizaciones, cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) se ha confirmado histológicamente o citológicamente.

[00332] En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En algunas realizaciones, el cáncer (por ejemplo, tumor sólido) expresa PD-L1. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe expresión detectable (por ejemplo, expresión total o parcial) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de

membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. La expresión (por ejemplo, la expresión de membrana) de PD-L1 puede detectarse por cualquier método bien conocido en la materia, incluyendo, pero sin limitaciones, inmunohistoquímica. Ejemplos de ensayos inmunohistoquímicos para la medición de la expresión de PD-L1 en células de tumores son suministrados en Hirsch et al (2017, *J. Thoracic Oncol.* 12 (2): 208-222), Rimm et al (2017, *JAMA Oncol.* 3 (8): 1051-1058) y Diggs y Hsueh (2017, *Biomarker Res.* 5: 12), que son integralmente incorporados al presente por referencia.

[00333] En algunas realizaciones, el cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) expresa PD-L1. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión detectable (por ejemplo, expresión total o parcial) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del cáncer metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1% (por ejemplo, al menos 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del tumor metastático o local avanzado (por ejemplo, tumor sólido) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. La expresión (por ejemplo, la expresión de membrana) de PD-L1 puede detectarse por cualquier método bien conocido en la materia, incluyendo, pero sin limitaciones, inmunohistoquímica. Ejemplos de ensayos inmunohistoquímicos para la medición

de la expresión de PD-L1 en células de tumores son suministrados en Hirsch et al (2017, *J. Thoracic Oncol.* 12 (2): 208-222), Rimm et al (2017, *JAMA Oncol.* 3 (8): 1051-1058) y Diggs y Hsueh (2017, *Biomarker Res.* 5: 12), que son integralmente incorporados al presente por referencia.

[00334] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según un método descrito en el presente es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). En algunas realizaciones, el cáncer tratado según un método descrito en el presente es cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según un método descrito en el presente es NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según un método descrito en el presente es NSCLC en la Etapa IV. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de pacientes utilizando una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁)) o composición farmacéutica comprendiendo el anticuerpo anti-CTLA-4 y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P)) o composición farmacéutica comprendiendo el anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1 es AGEN2034 (IgG₄ S228P). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra de NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) que exhibe la expresión detectable (por ejemplo, expresión parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra de NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%). En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 1%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo,

expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 5%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 25%. En algunas realizaciones, el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) que exhibe la expresión de membrana detectable (por ejemplo, expresión de membrana parcial o completa) de PD-L1 es de al menos 50%. En algunas realizaciones, el NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) no posee aberraciones de tumores genómicos ALK o EGFR. En algunas realizaciones, el NSCLC (el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) no posee mutación sensibilizante de EGFR (por ejemplo, una mutación que sea propensa a tratamiento con un inhibidor de la tirosina quinase, que incluye erlotinib, gefitinib o afatinib) o translocación de ALK. En algunas realizaciones, el paciente portador del NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) no ha recibido tratamiento quimioterapéutico sistémico anterior para NSCLC. En algunas realizaciones, el NSCLC (por ejemplo, el NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) es tratado según un método descrito en el presente como primera terapia de cáncer luego del diagnóstico (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5, ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico) del NSCLC. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de un paciente portador de NSCLC (por ejemplo, NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) utilizando una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente, por ejemplo AGEN1884 (IgG₁) o composición farmacéutica comprendiendo el anticuerpo anti-CTLA-4 y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el present, por ejemplo AGEN2034 (IgG₄ S228P), o composición farmacéutica comprendiendo el anticuerpo anti-PD-1, en que el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión detectable (por ejemplo, expresión de membrana, expresión de membrana completa o parcial) de PD-L1 es de al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%, en que el método se suministra como primera terapia de cáncer luego del diagnóstico (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; o 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico) del NSCLC. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de un paciente portador de NSCLC (por

ejemplo, NSCLC en la Etapa IV, metastático o local avanzado) utilizando una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente, por ejemplo AGEN1884 (IgG₁) o composición farmacéutica comprendiendo el anticuerpo anti-CTLA-4y (b) pembrolizumab o composición farmacéutica comprendiendo pembrolizumab, en que el porcentaje de células de tumor en una muestra del NSCLC que exhibe la expresión detectable (por ejemplo, expresión de membrana, expresión de membrana completa o parcial) de PD-L1 es de al menos 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% ó 90%, en que el método se suministra como primera terapia de cáncer luego del diagnóstico (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; o 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico) del NSCLC.

[00335] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un cáncer cervical. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un adenocarcinoma del cuello uterino, carcinoma adenoescamoso o carcinoma de células escamosas irresecable, metastático o local avanzado. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un cáncer cervical irresecable o metastático. En algunas realizaciones, el cáncer cervical ha progresado luego de terapia estándar (por ejemplo, ha recaído luego de la terapia estándar o es refractario a la terapia estándar). En algunas realizaciones, la terapia estándar comprende quimioterapia que contiene platina. En algunas realizaciones, la quimioterapia que contiene platina es seleccionada desde el grupo que consiste de cisplatina, carboplatina, oxaliplatina, nedaplatina, satraplatina, picoplatina, triplatina, fenantriplatina, iproplatina, lobaplatina, heptaplatina, lipoplatina y una de sus combinaciones. En algunas realizaciones, la terapia estándar comprende adicionalmente segunda quimioterapia. En algunas realizaciones, la segunda quimioterapia es seleccionada desde el grupo que consiste de análogos de nucleótido (por ejemplo, gemcitabina), un antimetabólito de folato (por ejemplo, pemetrexed) y un taxano (por ejemplo, paclitaxel). En algunas realizaciones, la terapia estándar es cualquier quimioterapia doble con base en platina (PT-DC) (también conocida como doblete que contiene platina) conocida en la materia. En algunas realizaciones, el PT-DC comprende cisplatina y gemcitabina, cisplatina y pemetrexed, cisplatina y paclitaxel, carboplatina y paclitaxel o cisplatina y topotecano. La terapia estándar (por ejemplo, que comprende PT-DC) puede opcionalmente comprender adicionalmente una o más terapias adicionales, como bevacizumab. En algunas realizaciones, la terapia estándar comprende paclitaxel y topotecano.

En algunas realizaciones, el cáncer cervical es HPV positivo. En algunas realizaciones, el cáncer cervical es asociado a la inestabilidad microsatélite. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un carcinoma del cuello uterino, carcinoma adenoescamoso o carcinoma de las células escamosas irresecable metastático ou local avanzado, que ha recaído luego de la administración de un doblete que contiene platina para el tratamiento de la enfermedad avanzada (recurrente, irresecable o metastática). En algunas realizaciones, el cáncer del cuello uterino es tratado según un método descrito en el presente como una primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico de cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas; o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico). En ciertas realizaciones, el cáncer del cuello uterino se trata de acuerdo con un método descrito en este documento como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de la progresión de tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de la progresión del tumor) que haya ocurrido a pesar de tratamiento anterior del cáncer del cuello uterino con terapia de cáncer distinta, opcionalmente en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el cáncer del cuello uterino es tratado según un método descrito en el presente como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta), opcionalmente en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de pacientes portadores de cáncer cervical (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino irresecable, metastático o local avanzado) utilizando una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en este documento, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o una composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito aquí, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1, en donde el método se proporciona como una primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico del cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas; o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico). En ciertas realizaciones, el método comprende tratar a un sujeto que

tiene cáncer de cuello uterino (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas metastásico o localmente avanzado, irresecable, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino) usando una combinación terapéutica que comprende (a) un anti-CTLA-4 anticuerpo descrito en la presente memoria, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito en este documento, por ejemplo, AGEN2034 (IgG4 S228P), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-PD-1, en que el método es suministrado luego del diagnóstico de la progresión del tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de la progresión del tumor) que ha ocurrido a pesar del tratamiento anterior del cáncer cervical con una terapia de cáncer distinta, o suministrado luego del diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta), en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de pacientes portadores de cáncer cervical (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino irresecable, metastático o local avanzado) utilizando una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito aquí, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4, y (b) pembrolizumab o composición farmacéutica que comprende pembrolizumab, en donde el método se proporciona como un primera terapia contra el cáncer después del diagnóstico de cáncer de cuello uterino (por ejemplo, dentro de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 semanas; o, 1, 2, 3, 4, 6, 8 o 12 meses después del diagnóstico). En ciertas realizaciones, el método comprende tratar a un sujeto que tiene cáncer de cuello uterino (por ejemplo, un carcinoma de células escamosas metastásico o localmente avanzado, irresecable, carcinoma adenoescamoso o adenocarcinoma del cuello uterino) usando una combinación terapéutica que comprende (a) un anti-CTLA-4 anticuerpo descrito en la presente memoria, por ejemplo, AGEN1884 (IgG1), o composición farmacéutica que comprende dicho anticuerpo anti-CTLA-4; y (b) pembrolizumab o composición farmacéutica que comprende y pembrolizumab, en que el método es suministrado luego del diagnóstico de la progresión del tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del

diagnóstico de la progresión del tumor) que ha ocurrido a pesar del tratamiento anterior del cáncer cervical con una terapia de cáncer distinta, o suministrado luego del diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta), en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada.

[00336] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un carcinoma de las células escamosas cutáneo (cSCC). En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es un carcinoma de las células escamosas cutáneo (cSCC) en la Etapa IV. En algunas realizaciones, el cSCC (por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) no es curable con terapia de radiación. En algunas realizaciones, el cSCC en la Etapa IV es diagnosticado histológicamente o citológicamente, según la octava edición del manual de etapas del American Joint Committee on Cancer (AJCC-8). En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de pacientes utilizando una combinación terapéutica que comprende (a) un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁)) o a composición farmacéutica comprendiendo un anticuerpo anti-CTLA-4 y (b) un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P)) o a composición farmacéutica comprendiendo un anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de pacientes utilizando un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente (por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P)) o a composición farmacéutica comprendiendo un anticuerpo anti-PD-1 como monoterapia. En algunas realizaciones, el cSCC (por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) es tratado según un método descrito en el presente como primera terapia de cáncer luego del diagnóstico del cSCC (por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5, ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico). En algunas realizaciones, el cSCC (por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) es tratado según un método descrito en el presente como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de la progresión de tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de la progresión del tumor) que haya ocurrido a pesar de tratamiento anterior del cSCC (por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) con terapia de cáncer distinta, opcionalmente en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el cSCC

(por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) es tratado según un método descrito en el presente como la primera terapia de cáncer luego del diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta), opcionalmente en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada. En algunas realizaciones, el método comprende el tratamiento de pacientes portadores de cSCC (por ejemplo, cSCC en la Etapa IV) utilizando un anticuerpo descrito en el presente (por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P)) o a composición farmacéutica comprendiendo un anticuerpo anti-PD-1 como monoterapia, en que el método es suministrado luego del diagnóstico de la progresión del tumor (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de la progresión del tumor) que ha ocurrido a pesar del tratamiento anterior del cáncer cervical con una terapia de cáncer distinta, o suministrado hasta el diagnóstico de toxicidad de una terapia de cáncer distinta (por ejemplo, en hasta 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 días; 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 semanas; ó 1, 2, 3, 4, 6, 8 ó 12 meses luego del diagnóstico de toxicidad de la terapia de cáncer distinta) y en que el método descrito en el presente es suministrado como la segunda terapia de cáncer administrada.

[00337] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es linfoma de células B (por ejemplo, leucemia linfocítica crónica de células B, linfoma no de Hodgkin de células B, linfoma de células B cutáneas, linfoma de células B grandes difusas), carcinoma basocelular, cáncer de vejiga, blastoma, metástasis cerebral, cáncer de mama, linfoma de Burkitt, carcinoma (por ejemplo, adenocarcinoma (por ejemplo, de la unión gastroesofágica)), cáncer cervical, cáncer de colon, cáncer colorrectal (cáncer de colon y cáncer rectal), carcinoma endometrial, cáncer de esófago, sarcoma de Ewing, linfoma folicular, cáncer gástrico, carcinoma de la unión gastroesofágica, cáncer gastrointestinal, glioblastoma (por ejemplo, glioblastoma multiforme, por ejemplo recién diagnosticado o recurrente), glioma, cáncer de la cabeza y del cuello (por ejemplo, carcinoma de las células escamosas de la cabeza y el cuello), metástasis hepática, linfoma de Hodgkin y no de Hodgkin, cáncer renal (por ejemplo, hepatoma y carcinoma hepático), cáncer del pulmón (por ejemplo, cáncer del pulmón de células no pequeñas y cáncer del pulmón de células pequeñas), linfoma linfoblástico, linfoma, linfoma de células del manto, tumor cerebral metastático, cáncer metastático, mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), neuroblastoma, melanoma ocular, cáncer bucofaríngeo, osteosarcoma, cáncer

de ovario, cáncer pancreático (por ejemplo, adenocarcinoma ductal pancreático), cáncer de la próstata (por ejemplo, refractario a hormonas (por ejemplo, resistente a la castración), metastático, refractario a hormonas metastático (por ejemplo, resistente a la castración, independiente de andrógenos)), carcinoma de las células renales (por ejemplo, metastático), carcinoma de las glándulas salivales, sarcoma (por ejemplo, rabdomiosarcoma), cáncer de la piel (por ejemplo, melanoma (por ejemplo, melanoma metastático)), sarcoma de tejido blando, tumor sólido, carcinoma de las células escamosas, sarcoma sinovial, cáncer de los testículos, cáncer de la tiroides, cáncer de células de transición (cáncer de las células uroteliales), melanoma uveal (por ejemplo, metastático), carcinoma verrugoso, cáncer vulvar y macroglobulinemia de Waldenstrom.

[00338] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es sarcoma o carcinoma humano, por ejemplo, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma del colon, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de la próstata, carcinoma de las células escamosas, carcinoma de las células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de las células renales (por ejemplo, metastático), hepatoma, carcinoma de los conductos biliares, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrional, tumor de Wilms, cáncer cervical, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, glioblastoma multiforme, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, meningioma, melanoma, neuroblastoma o retinoblastoma.

[00339] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es leucemia linfocítica aguda o leucemia mielocítica aguda (por ejemplo, mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica y euritroleucemia); leucemia crónica (leucemia mielocítica (granulocítica) crónica o leucemia linfocítica crónica); enfermedad de Hodgkin; enfermedad no de Hodgkin; leucemia mieloide aguda; linfoma de células B; linfoma de células T; linfoma de células grandes anaplástico; linfoma intraocular; linfoma folicular; linfoma del

intestino delgado; o linfoma de la zona marginal esplénica.

[00340] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es mieloma múltiple, macroglobulinemia de Waldenstrom, enfermedad de cadena pesada, tumores estromales gastrointestinales, cáncer de la cabeza y/o del cuello (por ejemplo, carcinoma de células escamosas de la hipofaringe, carcinoma de células escamosas de la laringe, carcinoma celular de orofaringe o carcinoma verrugoso de laringe), sarcoma estromal endometrial, sarcoma de mastocitos, sarcoma de tejido blando de adultos, sarcoma uterino, carcinoma de células Merkel, carcinoma urotelial, melanoma con metástasis cerebrales, melanoma uveal, melanoma uveal con metástasis del hígado, cáncer del pulmón de células no pequeñas, cáncer rectal o síndrome mielodisplásica. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos es metastático.

[00341] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer bronquial, cáncer de vejiga, cáncer de cerebro o del sistema nervioso central, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer uterino o endometrial, cáncer de la cavidad oral o de faringe, linfoma no de Hodgkin, cáncer de tiroides, cáncer renal, cáncer de tracto biliar, cáncer de apéndice o intestino delgado, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula adrenal, cáncer de células escamosas, mesotelioma, osteocarcinoma, carcinoma tímico/del tioma, glioblastoma, síndrome mielodisplásica, sarcoma de tejido blando, DIPG, adenocarcinoma, osteosarcoma, condrosarcoma, leucemia o cáncer pancreático. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente incluye carcinoma (por ejemplo, adenocarcinoma), linfoma, blastoma, melanoma, sarcoma o leucemia.

[00342] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es cáncer de las células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer gastrointestinal, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, cáncer pancreático, glioblastoma, glioma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepático y hepatoma), cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, carcinoma de células Merkel, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de estómago, cáncer de vejiga urinaria, carcinoma endometrial, mieloma (por ejemplo, mieloma múltiple), carcinoma de las glándulas salivales, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de las células renales y tumores de Wilms), carcinoma basocelular, melanoma, cáncer de próstata,

cáncer de vulva, cáncer de tiroides, cáncer testicular, cáncer de esófago, adenocarcinoma seroso o varios tipos de cáncer de la cabeza y del cuello. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente incluye melanoma desmoplástico, cáncer de mama inflamatorio, timoma, cáncer rectal, cáncer anal o glioma del tronco encefálico tratable quirúrgicamente o no tratable quirúrgicamente. En una realización específica, el cáncer es un tumor sólido. En otra realización específica, el cáncer es glioblastoma multiforme. En algunas realizaciones, el glioblastoma multiforme es recurrente. En algunas realizaciones, el glioblastoma multiforme es recién diagnosticado. En algunas realizaciones, el glioblastoma multiforme se encuentra en un paciente portador de promotores de MGMT no metilados. En algunas realizaciones, el glioblastoma multiforme es refractario a la terapia de Bevacizumab. En algunas realizaciones, el glioblastoma multiforme se encuentra en pacientes que no han recibido terapia de Bevacizumab.

[00343] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es melanoma metastático (por ejemplo, melanoma metastático resistente), cáncer de ovario metastático o carcinoma de las células renales metastático. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es melanoma que es resistente a ipilimumab. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es melanoma que es resistente a nivolumab o pembrolizumab. En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es melanoma que es resistente a ipilimumab y nivolumab o pembrolizumab.

[00344] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama resistente a herceptina y cáncer de mama resistente a trastuzumab-DM1 (T-DMA1)), cáncer de próstata, glioblastoma multiforme, cáncer colorrectal, sarcoma, cáncer de vejiga, cáncer cervical, cánceres asociados a HPV, cánceres de vagina, cánceres de vulva, cánceres de pene, cáncer de ano, cáncer de recto, cáncer de orofaringe, mieloma múltiple, carcinoma de células renales, cáncer de ovario, cáncer hepatocelular, cáncer endometrial, cáncer pancreático, linfoma y leucemia (por ejemplo, leucemia de ancianos, leucemia mieloide aguda (AML) y AML de ancianos).

[00345] En algunas realizaciones, el cáncer tratado según los métodos descritos en el presente es melanoma maligno metastático (por ejemplo, melanoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células claras), cáncer de próstata (por ejemplo,

adenocarcinoma de próstata refractario a hormonas), cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón de células no pequeñas), cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer cutáneo, cáncer de cabeza o del cuello, cáncer uterino, cáncer de ovario, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer testicular, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma del cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, cáncer de esófago, cáncer de intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula adrenal, sarcoma de tejido blando, cáncer de uretra, cáncer de pene, leucemias crónicas o agudas, incluyendo leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, tumores sólidos de la niñez, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga, cáncer de los riñones o uretra, carcinoma de la pelvis renal, neoplasma del sistema nervioso central (SNC), linfoma del SNC primario, angiogénesis de tumor, tumor del eje espinal, glioma del tronco encefálico, glioma, adenoma de la pituitaria, sarcoma de Kaposi, cáncer epidermoidal, cáncer de células escamosas, linfoma de células T, cánceres inducidos por el ambiente, incluyendo los inducidos por asbesto, cáncer de esófago, cáncer de hígado, malignidades refractarias o recurrentes, cánceres metastáticos, cánceres que expresan PD-L1 y combinaciones de dichos cánceres.

[00346] En algunas realizaciones, el paciente ha recibido inmunoterapia anteriormente. En algunas realizaciones, el paciente no ha recibido inmunoterapia anteriormente. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer avanzado o metastático.

[00347] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de prevención o tratamiento de enfermedades infecciosas en pacientes, en que el método comprende la administración al paciente de una cantidad eficaz de un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica según la presente invención. En una realización, son suministrados en el presente métodos de prevención y/o tratamiento de infecciones (por ejemplo, infección viral, infección bacteriana, infección fúngica, infección por protozoos o infección parasítica). La infección evitada y/o tratada según los métodos puede ser causada por un agente infeccioso identificado en el presente. En una realización específica, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es el único agente activo administrado a un paciente. En algunas realizaciones, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es utilizada en combinación con intervenciones

antiinfecciosas (por ejemplo, antivirales, antibacterianos, antifúngicos o antihelmínticos) para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

[00348] Las enfermedades infecciosas que pueden tratarse y/o evitarse por anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente son causadas por agentes infecciosos, incluyendo, pero sin limitación, bacterias, parásitos, hongos, protozoarios y virus. En una realización específica, la enfermedad infecciosa tratada y/o evitada por anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente es causada por virus. Las enfermedades virales o infecciones virales que pueden evitarse y/o tratarse según los métodos descritos en el presente incluyen, pero sin limitación, las causadas por hepatitis tipo A, hepatitis tipo B, hepatitis tipo C, gripe (por ejemplo, influenza A o influenza B), varicela, adenovirus, herpes simplex tipo I (HSV-I), herpes simplex tipo II (HSV-II), peste bovina, rinovirus, ecovirus, rotavirus, virus sincitial respiratorio, virus del papiloma, virus papova, citomegalovirus, equinovirus, arbovirus, huntavirus, virus Cocksackie, virus de las paperas, virus del sarampión, virus de la rubéola, virus de la polio, viruela, virus Epstein Barr, virus de la inmunodeficiencia humana tipo I (HIV-I), virus de la inmunodeficiencia humana tipo II (HIV-II) y agentes de enfermedades virales como meningitis viral, encefalitis, dengue o viruela.

[00349] Infecciones bacterianas que pueden evitarse y/o tratarse incluyen infecciones causadas por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus viridans* y *Pseudomonas aeruginosa*. Enfermedades bacterianas causadas por bacterias (por ejemplo, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus viridans* y *Pseudomonas aeruginosa*) que pueden evitarse y/o tratarse según los métodos descritos en el presente incluyen, pero sin limitación, *Mycobacteria rickettsia*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *S. pneumonia*, *Borrelia burgdorferi* (enfermedad de Lyme), *Bacillus anthracis* (ántrax), tétano, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, micobacteria, tos ferina, cólera, plaga, difteria, clamidia, *S. aureus* y *Legionella*.

[00350] Enfermedades protozoarias o infecciones protozoarias causadas por protozoos que pueden evitarse y/o tratarse según los métodos descritos en el presente incluyen, pero sin limitación, *Leishmania*, coccidiosis, *Trypanosoma*, *Schistosoma* o malaria. Enfermedades parasíticas o infecciones parasíticas causadas por parasitas que pueden evitarse y/o tratarse según

los métodos descritos en el presente incluyen, pero sin limitación, clamidia y *Rickettsia*.

[00351] Enfermedades fúngicas o infecciones fúngicas que pueden evitarse y/o tratarse según los métodos descritos en el presente incluyen, pero sin limitación, las causadas por infecciones por *Candida*, cigomicosis, mastitis por *Candida*, tricosporonosis diseminada progresiva con tricosporonemia latente, candidiasis diseminada, paracoccidioidomicosis pulmonar, aspergilosis pulmonar, pneumonia por *Pneumocystis carinii*, meningitis criptocócica, meningoencefalitis coccidioide y vasculitis cefalorraquídea, infección por *Aspergillus niger*, *Fusarium keratitis*, micosis del seno paranasal, endocarditis por *Aspergillus fumigatus*, discondroplasia tibial, vaginitis por *Candida glabrata*, candidiasis bucofaringea, enfermedad granulomatosa crónica ligada a X, pie de atleta, candidiasis cutánea, placentitis micótica, tricosporonosis diseminada, aspergilosis broncopulmonar alérgica, queratitis micótica, infección por *Cryptococcus neoformans*, peritonitis fúngica, infección por *Curvularia geniculata*, endoftalmitis estafilocócica, esporotricosis y dermatofitosis.

[00352] En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa es aguda. En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa es crónica. En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa es causada por flavivirus, por ejemplo, virus del Nilo occidental, virus de la encefalitis de Saint Louis, virus de Powassan, virus de la encefalitis transmitido por la garrapata, virus de la dengue, virus de la zika, virus de la enfermedad de la Floresta de Kyasanur, virus de la fiebre amarilla y virus chikungunya. En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa es causada por el virus Ebola. En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa es causada por el virus de la influenza. En algunas realizaciones, la enfermedad infecciosa es causada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), virus de la Hepatitis B (HBV) o virus de la Hepatitis C (HCV). En algunas realizaciones, los anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente promueven el control viral. En algunas realizaciones, los anticuerpos, combinaciones terapéuticas o composiciones farmacéuticas descritas en el presente promueven la eliminación de reservorios virales.

[00353] En algunas realizaciones, dichos métodos comprenden adicionalmente la administración de un agente terapéutico adicional al paciente. En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico, radioterapéutico o de orientación de control. En algunas realizaciones, el agente quimioterapéutico es un agente hipometilante (por ejemplo, azacitidina). En algunas realizaciones, el agente de orientación de control es seleccionado desde el grupo que consiste de un anticuerpo anti-CTLA-4 antagonista, un anticuerpo anti-PD-L1 antagonista, un anticuerpo anti-PD-L2 antagonista, un anticuerpo anti-PD-1 antagonista, un anticuerpo anti-TIM-3 antagonista, un anticuerpo anti-LAG-3 antagonista, un anticuerpo anti-CEACAM1 antagonista, un anticuerpo anti-GITR agonista y un anticuerpo

anti-OX40 agonista.

[00354] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-1 es utilizado en los métodos descritos en el presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab, también conocido como BMS-936558 ó MDX1106, desarrollado por Bristol-Myers Squibb. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab, también conocido como lambrolizumab o MK-3475, desarrollado por Merck & Co. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pidilizumab, también conocido como CT-011, desarrollado por CureTech. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es MEDI0680, también conocido como AMP-514, desarrollado por Medimmune. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es PDR001 desarrollado por Novartis Pharmaceuticals. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es REGN2810 desarrollado por Regeneron Pharmaceuticals. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es PF-06801591 desarrollado por Pfizer. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es BGB-A317 desarrollado por BeiGene. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es TSR-042 desarrollado por AnaptysBio y Tesaro. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es SHR-1210 desarrollado por Hengrui.

[00355] Ejemplos no limitantes adicionales de anticuerpos anti-PD-1 que pueden utilizarse en métodos de tratamiento descritos en el presente son descritos en las siguientes patentes y pedidos de patentes, que se incorporan integralmente al presente por referencia para todos los propósitos: Patente Norteamericana n° 6.808.710; Patente Norteamericana n° 7.332.582; Patente Norteamericana n° 7.488.802; Patente Norteamericana n° 8.008.449; Patente Norteamericana n° 8.114.845; Patente Norteamericana n° 8.168.757; Patente Norteamericana n° 8.354.509; Patente Norteamericana n° 8.686.119; Patente Norteamericana n° 8.735.553; Patente Norteamericana n° 8.747.847; Patente Norteamericana n° 8.779.105; Patente Norteamericana n° 8.927.697; Patente Norteamericana n° 8.993.731; Patente Norteamericana n° 9.102.727; Patente Norteamericana n° 9.205.148; Patente Norteamericana Publicada n° US 2013/0202623 A1; Patente Norteamericana Publicada n° US 2013/0291136 A1; Patente Norteamericana Publicada n° US 2014/0044738 A1; Patente Norteamericana Publicada n° US 2014/0356363 A1; Patente Norteamericana Publicada n° US 2016/0075783 A1; y Patente PCT n° WO 2013/033091 A1; Patente PCT n° WO 2015/036394 A1; Patente PCT n° WO 2014/179664 A2; Patente PCT n° WO 2014/209804 A1; Patente PCT n° WO 2014/206107 A1; Patente PCT n° WO 2015/058573 A1; Patente PCT n° WO 2015/085847 A1; Patente PCT n° WO 2015/200119 A1; Patente PCT n° WO 2016/015685

A1; y Patente PCT nº WO 2016/020856 A1.

[00356] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-PD-L1 es utilizado en los métodos descritos en el presente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es atezolizumab, desarrollado por Genentech. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es durvalumab, desarrollado por AstraZeneca, Celgene y Medimmune. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es avelumab, también conocido como MSB0010718C, desarrollado por Merck Serono y Pfizer. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es MDX-1105, desarrollado por Bristol-Myers Squibb. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-L1 es AMP-224, desarrollado por Amplimmune y GSK.

[00357] Ejemplos no limitantes adicionales de anticuerpos anti-PD-L1 que pueden utilizarse en métodos de tratamiento descritos en el presente son descritos en las siguientes patentes y pedidos de patentes, que se incorporan integralmente al presente por referencia para todos los propósitos: Patente Norteamericana nº 7.943.743; Patente Norteamericana nº 8.168.179; Patente Norteamericana nº 8.217.149; Patente Norteamericana nº 8.552.154; Patente Norteamericana nº 8.779.108; Patente Norteamericana nº 8.981.063; Patente Norteamericana nº 9.175.082; Patente Norteamericana Publicada nº US 2010/0203056 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2003/0232323 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2013/0323249 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2014/0341917 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2014/0044738 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2015/0203580 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2015/0225483 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2015/0346208 A1; Patente Norteamericana Publicada nº US 2015/0355184 A1; y Patente PCT nº WO 2014/100079 A1; Patente PCT nº WO 2014/022758 A1; Patente PCT nº WO 2014/055897 A2; Patente PCT nº WO 2015/061668 A1; Patente PCT nº WO 2015/109124 A1; Patente PCT nº WO 2015/195163 A1; Patente PCT nº WO 2016/000619 A1; y Patente PCT nº WO 2016/030350 A1.

[00358] En algunas realizaciones, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente se administra a pacientes en combinación con un compuesto que dirige una o más enzimas inmunomoduladoras como IDO (indoelamina-(2,3)-dioxigenase) y/o TDO (triptofano 2,3-dioxigenase). En algunas realizaciones, dicho compuesto es seleccionado desde el grupo que consiste de epacadostat (Incyte Corp.; véase, por ejemplo, WO 2010/005958, que es integralmente incorporada al presente por referencia), F001287 (Flexus

Biosciences/Bristol-Myers Squibb), indoximod (NewLink Genetics) y NLG919 (NewLink Genetics). En una realización, el compuesto es epacadostat. En otra realización, el compuesto es F001287. En otra realización, el compuesto es indoximod. En otra realización, el compuesto es NLG919. En una realización específica, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente en combinación con un inhibidor de IDO para el tratamiento de cáncer. El inhibidor de IDO descrito en el presente para uso en el tratamiento de cáncer está presente en una forma de dosis sólida de una composición farmacéutica, como una tableta, píldora o cápsula, en que la composición farmacéutica incluye un inhibidor de IDO y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Así, el anticuerpo descrito en el presente y el inhibidor de IDO descrito en el presente pueden administrarse aisladamente, secuencialmente o simultáneamente, como formas de dosis separadas. En una realización, el anticuerpo se administra parenteralmente y el inhibidor de IDO se administra oralmente. En realizaciones específicas, el inhibidor es seleccionado desde el grupo que consiste de epacadostat (Incyte Corporation), F001287 (Flexus Biosciences/Bristol-Myers Squibb), indoximod (NewLink Genetics) y NLG919 (NewLink Genetics). Epacadostat ha sido descrito en la Patente PCT n° WO 2010/005958, que es integralmente incorporada al presente como referencia para todos los propósitos. En una realización, el inhibidor es epacadostat. En otra realización, el inhibidor es F001287. En otra realización, el inhibidor es indoximod. En otra realización, el inhibidor es NLG919.

[00359] En algunas realizaciones, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente en combinación con una vacuna. En algunas realizaciones, la vacuna es vacuna contra tumores con base en proteína de choque térmico o una vacuna contra patógenos con base en proteína de choque térmico. En una realización específica, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente en combinación con una vacuna contra tumores con base en proteína de choque térmico. Proteínas de choque térmico (HSPs) son una familia de proteínas en alta conservación encontradas diseminadamente en todas las especies. Su expresión puede inducirse potentemente a niveles mucho más altos, como resultado de choque térmico u otras formas de tensión, incluyendo la exposición a toxinas, tensión oxidativa o escasez de glucosa. Cinco familias se han clasificado según el peso molecular: HSP-110, -90, -70, -60 y -28. HSPs suministran péptidos inmunogénicos por medio del proceso de presentación

cruzada en células que presentan antígenos (APCs) como macrófagos y células dendríticas (DCs), generando la activación de células T. HSPs operan como portadoras de chaperona de péptidos antigénicos asociados a tumores, formando complejos capaces de inducir la inmunidad específica de tumores. Mediante la liberación de células de tumor agonizantes, los complejos de HSP y antígeno son absorbidos por células que presentan antígeno (APCs), en que los antígenos se procesan en péptidos que ligan moléculas de MHC de clase I y de clase II, generando la activación de células T CD8+ y CD4+ antitumores. La inmunidad ofrecida por complejos de HSP derivados de preparaciones de tumores se dirige específicamente contra el repertorio de péptidos antigénicos exclusivos expresados por el cáncer de cada paciente.

[00360] Un complejo de péptido de proteína de choque térmico (HSPPC) es un complejo de péptido de proteína que consiste de una proteína de choque térmico en complejo no covalente con péptidos antigénicos. HSPPCs permiten reacciones inmunológicas innatas y adaptativas. En una realización específica, el(los) péptido(s) antigénico(s) exhibe(n) antigenicidad para el cáncer en tratamiento. HSPPCs son eficientemente detenidas por APCs por los receptores de membrana (especialmente CD91) o por ligación a receptores similares a Toll. La internalización de HSPPC resulta en maduración funcional de los APCs, en que la producción de quemoquina y citoquina genera la activación de células matadoras naturales (NK), monocitos y reacciones inmunológicas mediadas por Th1 y Th2. En algunas realizaciones, HSPPCs utilizadas en los métodos descritos en el presente comprenden una o más proteínas de choque térmico de la familia hsp60, hsp70 ó hsp90 de proteínas de tensión en complejo con péptidos antigénicos. En algunas realizaciones, HSPPCs comprenden hsc70, hsp70, hsp90, hsp110, grp170, gp96, calreticulina o combinaciones de dos o más de ellos.

[00361] En una realización específica, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente en combinación con un complejo de péptido de proteína de choque térmico (HSPPC), por ejemplo un complejo de péptido de proteína de choque térmico 96 (HSPPC-96) para el tratamiento de cáncer. HSPPC-96 comprende una proteína de choque térmico (Hsp) de 96 kDa, gp96, en complejo con péptidos antigénicos. HSPPC-96 es una inmunoterapia de cáncer producida con un tumor de paciente y contiene la “impresión digital” antigénica del cáncer. En algunas realizaciones, dicha impresión digital contiene antígenos exclusivos que solo están presentes en las células de cáncer específicas de aquel paciente y la inyección de la vacuna se destina a estimular el sistema inmunológico del

paciente para reconocer y atacar cualesquier células con la impresión digital de cáncer específica.

[00362] En algunas realizaciones, el HSPPC, como, por ejemplo HSPPC-96, se produce desde el tejido de tumor de un paciente. En una realización específica, el HSPPC (por ejemplo, HSPPC-96) se produce desde un tumor de la clase de cáncer o su metástasis en tratamiento. En otra realización específica, el HSPPC (por ejemplo, HSPPC-96) es autólogo para el paciente en tratamiento. En algunas realizaciones, el tejido de tumor es tejido de tumor no necrótico. En algunas realizaciones, al menos 1 gramo (por ejemplo, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 ó al menos 10 gramos) de tejido de tumor no necrótico se utiliza para producir un régimen de vacuna. En algunas realizaciones, luego de la resección quirúrgica, el tejido de tumor no necrótico es congelado antes del uso en la preparación de vacunas. En algunas realizaciones, el HSPPC, como, por ejemplo, HSPPC-96, es aislado del tejido de tumor por medio de métodos de purificación, filtrado y preparado para una vacuna inyectable. En algunas realizaciones, se administra al paciente 6-12 dosis del HSPPC, como, por ejemplo, HSPPC-96. En esas realizaciones, las dosis de HSPPC, como, por ejemplo, HSPPC-96, pueden administrarse semanalmente para las primeras cuatro dosis y, en seguida, quincenalmente para las 2-8 dosis adicionales.

[00363] Ejemplos adicionales de HSPPCs que pueden utilizarse según los métodos descritos en el presente son descritos en las siguientes patentes y pedidos de patente, que se incorporan integralmente al presente por referencia para todos los propósitos: Patentes Norteamericanas n° 6.391.306, 6.383.492, 6.403.095, 6.410.026, 6.436.404, 6.447.780, 6.447.781 y 6.610.659.

[00364] El anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica y el agente terapéutico adicional (por ejemplo, agente quimioterapéutico, radioterapéutico y de orientación de control, inhibidor de IDO y/o vacuna) pueden administrarse separadamente, secuencialmente o simultáneamente, como formas de dosis separadas. En una realización, un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente es administrado parenteralmente y un inhibidor de IDO es administrado oralmente.

[00365] Un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica descrita en el presente puede suministrarse a un paciente por una serie de vías. Estas incluyen, pero sin limitación, vía parenteral, intranasal, intratraqueal, oral, intradérmica, tópica, intramuscular, intraperitoneal, transdérmica, intravenosa, intratumoral, conjuntiva y subcutánea. La administración pulmonar puede también emplearse, por ejemplo, por el uso de un inhalador o

nebulizador y por formulación con un agente de aerosol para uso como spray. En algunas realizaciones, el anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica descrita en el presente se suministra por vía subcutánea o intravenosa. En algunas realizaciones, el anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica descrita en el presente se suministra por vía intratumoral. En algunas realizaciones, el anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica descrita en el presente se suministra a un nódulo linfático que drena el tumor. En algunas realizaciones, el anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica descrita en el presente se suministra por administración localizada (por ejemplo, administración subcutánea). En algunas realizaciones, el anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica descrita en el presente se suministra por vía sistémica. En algunas realizaciones, el anticuerpo, la combinación terapéutica o la composición farmacéutica descrita en el presente se suministra por vía local. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un primer anticuerpo y un segundo anticuerpo, en que el primer anticuerpo y el segundo anticuerpo son administrados por la misma vía (por ejemplo, intravenosa, subcutánea o intratumoral). En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un primer anticuerpo y un segundo anticuerpo, en que el primer anticuerpo y el segundo anticuerpo son administrados por vías distintas.

[00366] La cantidad de un anticuerpo, combinación terapéutica o composición farmacéutica que será eficaz en el tratamiento y/o prevención de una condición dependerá de la naturaleza de la enfermedad y puede determinarse por métodos clínicos estándar.

[00367] La dosis precisa a emplearse en una composición también dependerá de la vía de administración y de la seriedad de la infección o enfermedad causada por ella, y deberá decidirse según el juicio del practicante y las circunstancias de cada paciente. Dosis eficaces pueden también variar, por ejemplo, según el medio de administración, local blanco, estado fisiológico del paciente (incluyendo la edad, peso corporal y salud), si el paciente es humano o animal, otras medicaciones administradas o si el tratamiento es profiláctico o terapéutico. Normalmente, el paciente es humano, pero mamíferos no humanos también se pueden tratar, incluyendo mamíferos transgénicos. Las dosis de tratamiento son idealmente tituladas para optimizar la seguridad y la eficacia.

[00368] En algunas realizaciones, un anticuerpo anti-CTLA-4, un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 y/o una composición farmacéutica descrita en el presente es

administrada a un paciente (por ejemplo, por vía intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,01 mg/kg, cerca de 0,03 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas.

[00369] En un aspecto, se suministra en el presente un anticuerpo anti-CTLA-4, un anticuerpo anti-PD-1, un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 y/o una composición farmacéutica y, opcionalmente, un agente terapéutico adicional, para uso en un método de tratamiento de cáncer, para incrementar o inducir una reacción inmunológica o para el tratamiento de enfermedades infecciosas, en que el anticuerpo y/o la composición farmacéutica es administrada a pacientes a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas.

[00370] En un aspecto, se suministra en el presente el uso de una combinación terapéutica, un anticuerpo multiespecífico, un kit y/o una composición farmacéutica descrita en el presente en la preparación de medicamentos para el tratamiento de cáncer, incremento o inducción de reacción inmunológica, o para tratar enfermedades infecciosas. Alternativamente, se suministra el uso de una combinación terapéutica y/o un anticuerpo multiespecífico para preparar un medicamento, composición farmacéutica o kit. Se suministra en el presente, por ejemplo, el uso de un anticuerpo anti-CTLA-4, anticuerpo anti-PD-1, anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 y, opcionalmente, un agente terapéutico adicional para preparar una composición farmacéutica, medicamento o kit de tratamiento de cáncer, para incrementar o inducir reacción inmunológica, o para tratar enfermedades infecciosas.

[00371] Em algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa o inyección intratumoral) a 0,01 mg/kg o cerca de 0,01 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. Em algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 0,03 mg/kg o cerca de 0,03 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. Em algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 0,1 mg/kg o cerca de 0,1 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. Em algunas realizaciones, un

anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 0,3 mg/kg o cerca de 0,3 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 1 mg/kg o cerca de 1 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 3 mg/kg o cerca de 3 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 6 mg/kg o cerca de 6 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, un anticuerpo o composición farmacéutica descrita en el presente es administrada a un paciente (por ejemplo, por inyección intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 10 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas.

[00372] La cantidad eficaz de una combinación terapéutica de una primera terapia y una segunda terapia incluye una primera cantidad de la primera terapia y una segunda cantidad de la segunda terapia, en que la administración de la combinación terapéutica alcanza un efecto terapéutico o profiláctico deseado. La primera cantidad puede ser menor, igual o más alta que la cantidad eficaz de la primera terapia administrada aisladamente y la segunda cantidad puede ser menor, igual o más alta que la cantidad eficaz de la segunda terapia administrada aisladamente. En algunas realizaciones, la primera cantidad es menor que la cantidad eficaz de la primera terapia administrada aisladamente. En algunas realizaciones, la segunda cantidad es menor que la cantidad eficaz de la segunda terapia administrada aisladamente. En algunas cantidades, la primera cantidad es menor que la cantidad eficaz de la primera terapia administrada aisladamente y la segunda cantidad es menor que la cantidad eficaz de la segunda terapia administrada aisladamente.

[00373] De una combinación terapéutica comprender un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente, por ejemplo, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esa combinación terapéutica puede ser menor, igual o más alta que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente y/o la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 en esta combinación terapéutica puede ser menor, igual o más

alta que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esta combinación terapéutica es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 en esta combinación terapéutica es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esa combinación terapéutica es menor que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente y la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 en esta combinación terapéutica es menor que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente.

[00374] En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente administrado en primera frecuencia y un anticuerpo anti-PD1 descrito en el presente administrado en segunda frecuencia. La primera y la segunda frecuencia pueden seleccionarse independientemente una vez por semana, a cada dos semanas, a cada tres semanas, a cada cuatro semanas, a cada seis semanas, a cada ocho semanas, a cada doce semanas, una vez al mes, a cada dos meses, a cada tres meses, a cada cuatro meses, a cada cinco meses, a cada seis meses, a cada ocho meses y una vez al año. En algunas realizaciones, la primera y la segunda frecuencia son idénticas. En algunas realizaciones, la primera y la segunda frecuencia son distintas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 descrito es administrado a cada tres semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a cada dos semanas.

[00375] El anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 en una combinación terapéutica pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 son administrados simultáneamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 son administrados en la misma composición farmacéutica (por ejemplo, suministrados como una composición farmacéutica o suministrados como composiciones farmacéuticas separadas y misturados total o parcialmente antes o después de la administración). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 son administrados secuencialmente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 son administrados en composiciones farmacéuticas separadas, en que el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado después (por ejemplo, cerca de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días ó 14 días después) de

la administración del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 son administrados en composiciones farmacéuticas separadas, en que el anticuerpo anti-PD-1 es administrado después (por ejemplo, cerca de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días ó 14 días después) de la administración del anticuerpo anti-CTLA-4.

[00376] En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada seis semanas y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada seis semanas y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada seis semanas y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada seis semanas y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente y administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, cada administración del anticuerpo anti-CTLA-4 es conducida el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado hasta 30 minutos o una hora luego del término de la administración del anticuerpo anti-PD-1.

[00377] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 0,01 mg/kg o cerca de 0,01 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 0,03 mg/kg o cerca de 0,03 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6

mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 0,1 mg/kg o cerca de 0,1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 0,3 mg/kg o cerca de 0,3 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 1 mg/kg o cerca de 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 3 mg/kg o cerca de 3 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg ou cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 6 mg/kg o cerca de 6 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a 10 mg/kg o cerca de 10 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. El anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente por la misma vía de administración o por vías distintas (por ejemplo, según lo descrito en el presente). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el anticuerpo anti-PD-1 son administrados simultáneamente por inyección intravenosa (por ejemplo, infusión intravenosa). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y el

anticuerpo anti-PD-1 son ambos administrados secuencialmente por inyección intravenosa (por ejemplo, infusión intravenosa). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado por vía intravenosa a 0,1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado por vía intravenosa a 3 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a cada tres semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a cada dos semanas.

[00378] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg ó 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 3 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, cada administración del

anticuerpo anti-CTLA-4 es conducida el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado hasta 30 minutos o una hora luego del término de la administración del anticuerpo anti-PD-1.

[00379] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo AGEN2034 (IgG₄ S228P) son administrados en la dosis y frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13 abajo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo AGEN2034 (IgG₄ S228P) son administrados en cerca de la dosis y frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13 abajo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo AGEN2034 (IgG₄ S228P) son administrados en la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13 abajo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo AGEN2034 (IgG₄ S228P) son administrados en cerca de la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13 abajo. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 3 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a

cerca de 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 6 mg/kg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg ó 1 mg/kg cada seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg cada seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg cada seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg cada seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 3 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 1 mg/kg cada cerca de seis semanas y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 6 mg/kg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, cada administración del anticuerpo anti-CTLA-4 es conducida el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado hasta 30 minutos o una hora luego del término de la administración del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, cada administración del anticuerpo anti-CTLA-4 es conducida el mismo día del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado hasta 30 minutos o una hora luego del término de la administración del anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica es administrada a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses. En algunas realizaciones, la combinación terapéutica es administrada a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses.

Tabla 13. Dosis y frecuencia de administración de un anticuerpo anti-CTLA-4 y un anticuerpo anti-PD-1 en combinación:

Anticuerpo anti-CTLA-4		Anticuerpo Anti-PD-1	
Dosis (mg/kg)	Frecuencia	Dosis (mg/kg)	Frecuencia
0.3	cada 4 semanas	1	cada 2 semanas
0.3	cada 4 semanas	1	cada 3 semanas
0.3	cada 4 semanas	3	cada 2 semanas
0.3	cada 4 semanas	3	cada 3 semanas
0.3	cada 4 semanas	6	cada 2 semanas
0.3	cada 4 semanas	6	cada 3 semanas
0.3	cada 4 semanas	10	cada 2 semanas
0.3	cada 4 semanas	10	cada 3 semanas
0.3	cada 6 semanas	1	cada 2 semanas
0.3	cada 6 semanas	1	cada 3 semanas
0.3	cada 6 semanas	3	cada 2 semanas
0.3	cada 6 semanas	3	cada 3 semanas
0.3	cada 6 semanas	6	cada 2 semanas
0.3	cada 6 semanas	6	cada 3 semanas
0.3	cada 6 semanas	10	cada 2 semanas
0.3	cada 6 semanas	10	cada 3 semanas
0.3	cada 12 semanas	1	cada 2 semanas
0.3	cada 12 semanas	1	cada 3 semanas
0.3	cada 12 semanas	3	cada 2 semanas
0.3	cada 12 semanas	3	cada 3 semanas
0.3	cada 12 semanas	6	cada 2 semanas
0.3	cada 12 semanas	6	cada 3 semanas
0.3	cada 12 semanas	10	cada 2 semanas
0.3	cada 12 semanas	10	cada 3 semanas
1	cada 4 semanas	1	cada 2 semanas
1	cada 4 semanas	1	cada 3 semanas

Anticuerpo anti-CTLA-4		Anticuerpo Anti-PD-1	
Dosis (mg/kg)	Frecuencia	Dosis (mg/kg)	Frecuencia
1	cada 4 semanas	3	cada 2 semanas
1	cada 4 semanas	3	cada 3 semanas
1	cada 4 semanas	6	cada 2 semanas
1	cada 4 semanas	6	cada 3 semanas
1	cada 4 semanas	10	cada 2 semanas
1	cada 4 semanas	10	cada 3 semanas
1	cada 6 semanas	1	cada 2 semanas
1	cada 6 semanas	1	cada 3 semanas
1	cada 6 semanas	3	cada 2 semanas
1	cada 6 semanas	3	cada 3 semanas
1	cada 6 semanas	6	cada 2 semanas
1	cada 6 semanas	6	cada 3 semanas
1	cada 6 semanas	10	cada 2 semanas
1	cada 6 semanas	10	cada 3 semanas
1	cada 12 semanas	1	cada 2 semanas
1	cada 12 semanas	1	cada 3 semanas
1	cada 12 semanas	3	cada 2 semanas
1	cada 12 semanas	3	cada 3 semanas
1	cada 12 semanas	6	cada 2 semanas
1	cada 12 semanas	6	cada 3 semanas
1	cada 12 semanas	10	cada 2 semanas
1	cada 12 semanas	10	cada 3 semanas
3	cada 4 semanas	1	cada 2 semanas
3	cada 4 semanas	1	cada 3 semanas
3	cada 4 semanas	3	cada 2 semanas
3	cada 4 semanas	3	cada 3 semanas
3	cada 4 semanas	6	cada 2 semanas
3	cada 4 semanas	6	cada 3 semanas

Anticuerpo anti-CTLA-4		Anticuerpo Anti-PD-1	
Dosis (mg/kg)	Frecuencia	Dosis (mg/kg)	Frecuencia
3	cada 4 semanas	10	cada 2 semanas
3	cada 4 semanas	10	cada 3 semanas
3	cada 6 semanas	1	cada 2 semanas
3	cada 6 semanas	1	cada 3 semanas
3	cada 6 semanas	3	cada 2 semanas
3	cada 6 semanas	3	cada 3 semanas
3	cada 6 semanas	6	cada 2 semanas
3	cada 6 semanas	6	cada 3 semanas
3	cada 6 semanas	10	cada 2 semanas
3	cada 6 semanas	10	cada 3 semanas
3	cada 12 semanas	1	cada 2 semanas
3	cada 12 semanas	1	cada 3 semanas
3	cada 12 semanas	3	cada 2 semanas
3	cada 12 semanas	3	cada 3 semanas
3	cada 12 semanas	6	cada 2 semanas
3	cada 12 semanas	6	cada 3 semanas
3	cada 12 semanas	10	cada 2 semanas
3	cada 12 semanas	10	cada 3 semanas

[00380] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en la dosis y frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, como, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en cerca de la dosis y frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, como, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, como, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en cerca de la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el

anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a cerca de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de cuatro semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a cerca de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de seis semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a cerca de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de doce semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cuatro semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada seis semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada doce semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses.

[00381] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado en la dosis y frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13, en combinación con pembrolizumab administrado a 200 mg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado en la dosis y frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13, en combinación con pembrolizumab administrado a cerca de 200 mg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, como, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado en la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13, en combinación con pembrolizumab administrado a 200 mg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4, como, por ejemplo, AGEN1884 (IgG₁), es administrado en cerca de la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13, en combinación con pembrolizumab administrado a cerca de 200 mg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de cuatro semanas, en combinación con pembrolizumab administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 200 mg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo,

por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de seis semanas, en combinación con pembrolizumab administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 200 mg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de doce semanas, en combinación con pembrolizumab administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a cerca de 200 mg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada cerca de cuatro semanas, en combinación con pembrolizumab administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 200 mg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada seis semanas, en combinación con pembrolizumab administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 200 mg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,3 mg/kg, 1 mg/kg ó 3 mg/kg cada doce semanas, en combinación con pembrolizumab administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 200 mg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y pembrolizumab son administrados a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 y pembrolizumab son administrados a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses.

[00382] En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en la dosis y la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en cerca de la dosis y la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1, por ejemplo, AGEN2034 (IgG₄ S228P), es administrado, opcionalmente como monoterapia, en cerca de la dosis y cerca de la frecuencia exhibidas en una sola línea de la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a cerca de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg cada cerca de dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como

monoterapia, a cerca de 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg cada cerca de tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg cada dos semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa), opcionalmente como monoterapia, a 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg ó 10 mg/kg cada tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es administrado a pacientes por al menos 3, 6, 9, 12, 18 ó 24 meses.

[00383] En algunas realizaciones, la presente invención suministra un método de tratamiento de pacientes portadores de angiosarcoma, en que el método comprende la administración al paciente (por ejemplo, por vía intravenosa, intratumoral o subcutánea) de cantidad eficaz de una combinación terapéutica y/o anticuerpo multiespecífico según la presente invención. En algunas realizaciones, el paciente recibe la administración de una combinación terapéutica que comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en esta combinación terapéutica es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 0,1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa, intratumoral o subcutánea) a 0,01 mg/kg, 0,03 mg/kg, 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 6 mg/kg, 10 mg/kg, cerca de 0,1 mg/kg, cerca de 0,3 mg/kg, cerca de 1 mg/kg, cerca de 3 mg/kg, cerca de 6 mg/kg o cerca de 10 mg/kg, opcionalmente a cada una, dos o tres semanas. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CTLA-4 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 0,1 mg/kg y el anticuerpo anti-PD-1 es administrado (por ejemplo, por vía intravenosa) a 3 mg/kg, opcionalmente cada una, dos o tres semanas.

6.5 Producción de anticuerpos:

[00384] Los anticuerpos, incluyendo los anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos), que se ligan específicamente a CTLA-4 y/o PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 y/o PD-1 humano), pueden producirse por cualquier método conocido en la materia para la síntesis de anticuerpos, por ejemplo, por síntesis química o métodos de expresión recombinante. Los métodos descritos en el presente emplean, al menos que indicado en contrario, métodos

convencionales de biología molecular, microbiología, análisis genética, DNA recombinante, química orgánica, bioquímica, PCR, síntesis y modificación de oligonucleótidos, hibridación de ácidos nucleicos y campos relacionados en el conocimiento de la materia. Dichos métodos se describen, por ejemplo, en las referencias mencionadas en el presente y son totalmente explanados en la literatura. Véase, por ejemplo, Maniatis, T. et al (1982), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook, J. et al (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, segunda edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook, J. et al (2001), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel, F. M. et al, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 y actualizaciones anuales), Gait (ed.) (1984), *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991), *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren, B. et al (eds.) (1999), *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

[00385] En una realización específica, un anticuerpo descrito en el presente es un anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo recombinante) preparado, expreso, creado o aislado por cualquier medio que incluya la creación, por ejemplo, por medio de síntesis o ingeniería genética de secuencias de DNA. En algunas realizaciones, dicho anticuerpo comprende secuencias (por ejemplo, secuencias de DNA o secuencias de aminoácidos) que no existen naturalmente en el repertorio de línea germinal de anticuerpo de animales o mamíferos (por ejemplo, humanos) *in vivo*.

[00386] En un cierto aspecto, se suministra en el presente un método de preparación de anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 y/o PD-1 (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos que se ligan a CTLA-4 humano y/o PD-1 humano) que comprenden el cultivo de una célula o célula hospedadora descrita en el presente. En un cierto aspecto, se suministra en el presente un método de preparación de anticuerpos que se ligan específicamente a CTLA-4 y/o PD-1 (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos que se ligan a CTLA-4 y/o PD-1 humano) que comprenden la expresión (por ejemplo, la expresión recombinante) del anticuerpo utilizando una célula o célula hospedadora descrita en el presente (por ejemplo, una célula o célula hospedadora que comprende polinucleótidos que codifican un anticuerpo descrito en el presente). En una

realización específica, la célula es una célula aislada. En una realización específica, los polinucleótidos exógenos se han introducido en la célula. En una realización específica, el método comprende adicionalmente la etapa de purificación del anticuerpo obtenido de la célula o la célula hospedadora.

[00387] Los métodos de producción de anticuerpos policlonales son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, el Capítulo 11 en: *Short Protocols in Molecular Biology* (2002), quinta edición, Ausubel, F. M. et al, eds., John Wiley & Sons, Nueva York).

[00388] Los anticuerpos monoclonales pueden prepararse utilizando amplia variedad de métodos conocidos en la materia, incluyendo el uso de tecnologías de hibridoma, recombinantes y de exhibición de fago, o una de sus combinaciones. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse, por ejemplo, utilizando métodos de hibridoma que incluyen los conocidos en la técnica y enseñados, por ejemplo, en Harlow, E. & Lane, D., *Antibodies: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press, segunda edición, 1988); Hammerling, G. J. et al, en: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, NY, 1981). La expresión “anticuerpo monoclonal”, según lo utilizado en el presente, no se limita a anticuerpos producidos por medio de tecnología de hibridoma. Los anticuerpos monoclonales pueden producirse en forma recombinante, por ejemplo, desde células hospedadoras que expresan en forma exógena un anticuerpo descrito en el presente.

[00389] En realizaciones específicas, “anticuerpo monoclonal”, según lo utilizado en el presente, es un anticuerpo producido por una sola célula (por ejemplo, hibridoma o célula hospedadora productora de un anticuerpo recombinante), en que el anticuerpo se liga específicamente a CTLA-4 y/o PD-1 (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos que se ligan a CTLA-4 y/o PD-1 humano) según lo determinado, por ejemplo, por ELISA u otro ensayo de ligación competitiva o de ligación de antígenos conocido en la materia o en los Ejemplos suministrados en el presente. En realizaciones específicas, un anticuerpo monoclonal puede ser un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. En algunas realizaciones, un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo monovalente o un anticuerpo multivalente (por ejemplo, bivalente). En algunas realizaciones, un anticuerpo monoclonal puede ser un fragmento de Fab o un fragmento de F(ab')₂. Los anticuerpos monoclonales descritos en el presente pueden prepararse, por ejemplo, por medio del método de hibridoma descrito en Kohler, G. & Milstein, C. (1975), *Nature* 256: 495 o pueden, por ejemplo, ser aislados de bibliotecas de

fago utilizando los métodos descritos en el presente, por ejemplo. Otros métodos de preparación de líneas celulares clonales y anticuerpos monoclonales por ellos expresados son bien conocidos en la materia (véase, por ejemplo, el Capítulo 11 en: *Short Protocols in Molecular Biology* (2002), quinta edición, Ausubel, F. M. et al, arriba).

[00390] Los métodos de producción y selección de anticuerpos específicos utilizando la tecnología de hibridomas son rutineros y bien conocidos en la materia. En el método de hibridoma, por ejemplo, una rata u otro animal hospedador apropiado, como carneros, cabras, conejos, ratones, hámsters o monos, es inmunizado para generar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se ligarán específicamente a la proteína (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1)) utilizados para la inmunización. Alternativamente, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. Los linfocitos son fundidos con células de mieloma que utilizan un agente de fusión apropiado, tal como polietileno glicol, para formar una célula de hibridoma (Goding, J. W. (Ed.), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, págs. 59-103 (Academic Press, 1986)). Adicionalmente, un método RIMMS (inmunización repetitiva de múltiples locales) puede utilizarse para inmunizar el animal (Kilpatrick, K. E. et al (1997), *Hybridoma* 16: 381-9, integralmente incorporado al presente por referencia).

[00391] En algunas realizaciones, ratas (u otros animales, como ratones, monos, asnos, cerdos, carneros, hámster o perros) pueden inmunizarse con un antígeno (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1 humano)) y, al detectarse una reacción humana, por ejemplo, anticuerpos específicos para el antígeno son detectados en el suero de ratas, el bazo de la rata es cosechado y los esplenócitos son aislados. Los esplenócitos son fundidos por métodos bien conocidos a cualesquier células de mieloma apropiadas, como células de la línea celular SP20 disponible por la Colección Norteamericana de Cultivos de Tipos (ATCC®) (Manassas VA) para formar hibridomas. Los hibridomas son seleccionados y clonados por dilución limitada. En algunas realizaciones, los nódulos linfáticos de las ratas inmunizadas son cosechados y fundidos con células de mieloma NS0.

[00392] Las células de hibridoma preparadas de esta forma son sembradas y cultivadas en un medio de cultivo apropiado que contiene opcionalmente una o más sustancias que inhiben el crecimiento o la sobrevivencia de las células de mieloma parental no fundidas. Si las células de mieloma parental no poseen la enzima hipoxantina guanina fosforibosil transferase (HGPRT o

HPRT), por ejemplo, el medio de cultivo para los hibridomas típicamente incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), sustancias que evitan el crecimiento de células con deficiencia de HGPRT.

[00393] Realizaciones específicas emplean células de mieloma que se funden con eficiencia, sustentan la producción estable en alto nivel de anticuerpo por las células productoras de anticuerpos seleccionadas y son sensibles a medios como el medio HAT. Entre esas líneas celulares de mieloma, se encuentran líneas de mieloma murino, como la línea celular NS0 o las derivadas de tumores de ratas MOPC-21 y MPC-11 disponibles por el Centro de Distribución Celular del Instituto Salk, San Diego CA, Estados Unidos, y células SP-2 o X63-Ag8.653 disponibles por medio de la Colección Norteamericana de Cultivo de Tipos, Rockville MD, Estados Unidos. Las líneas celulares de heteromieloma humano/de ratas y mieloma humano se han descrito para la producción de anticuerpos monoclonales humanos (Kozbor, D. (1984), *J. Immunol.* 133: 3001-5; Brodeur et al, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, págs. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nova York, 1987)).

[00394] El medio de cultivo en el cual crecen las células de hibridoma es analizado para determinar la producción de anticuerpos monoclonales dirigidos contra CTLA-4 y/o PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 y/o PD-1 humano). La especificidad de ligación de anticuerpos monoclonales producidos por células de hibridoma se determina por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, inmunoprecipitación o un ensayo de ligación *in vitro*, como radioinmunoensayo (RIA) o ensayo inmunoabsorbente ligado por enzimas (ELISA).

[00395] Luego de la identificación de células de hibridoma que producen anticuerpos con la especificidad, afinidad y/o actividad deseada, los clones pueden subclonarse limitándose los procedimientos de dilución y cultivarse por métodos estándar (Goding, J. W. (Ed.), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, arriba). Medios de cultivo apropiados para este propósito incluyen, por ejemplo, medio D-MEM o RPMI 1640. Adicionalmente, las células de hibridoma pueden cultivarse *in vivo* como tumores de ascitis en animales.

[00396] Los anticuerpos monoclonales secretados por los subclones son adecuadamente separados del medio de cultivo, fluido de ascitis o suero por procedimientos de purificación de inmunoglobulina convencionales, como, por ejemplo, proteína A-Sepharose, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis de gel, diálisis o cromatografía de afinidad.

[00397] Los anticuerpos descritos en el presente pueden generarse por cualquier método

conocido por los expertos en la materia. Los fragmentos de Fab y $F(ab')_2$ descritos en el presente, por ejemplo, pueden producirse por división proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, utilizando enzimas como papaína (para producir fragmentos de Fab) o pepsina (para producir fragmentos de $F(ab')_2$). Un fragmento de Fab corresponde a uno de los dos brazos idénticos de una molécula de anticuerpo tetramérico y contiene la cadena ligera completa en pareja con los dominios VH y CH1 de la cadena pesada. Un fragmento de $F(ab')_2$ contiene los dos brazos de ligación de antígeno de una molécula de anticuerpo tetramérico ligada por ligaciones de disulfuro en la región de articulación.

[00398] Adicionalmente, los anticuerpos o fragmentos de ligación de antígenos descritos en el presente pueden también generarse utilizando varios métodos de exhibición de fago conocidos en la técnica. En los métodos de exhibición de fagos, las proteínas se exhiben sobre la superficie de partículas de fago que conducen las secuencias de polinucleótidos que las codifican. Particularmente, las secuencias de DNA que codifican regiones variables de cadena ligera y pesada son amplificadas desde bibliotecas de cDNA de animales (por ejemplo, bibliotecas de cDNA humanas o murinas de tejidos afectados). El DNA que codifica las regiones variables de cadena ligera y pesada es recombinado con un ligante de scFv por PCR y clonado en un vector de fagémido. El vector es electroporado en *E. coli* y el *E. coli* es infectado con fago auxiliar. El fago utilizado en esos métodos son típicamente fagos filamentosos, incluyendo fd y M13, y las regiones variables de cadena ligera y pesada son normalmente fundidas en forma recombinante al gene III o gene VIII de fago. El fago que expresa un anticuerpo que se liga a un antígeno específico puede seleccionarse o identificarse con el antígeno, utilizando, por ejemplo, antígeno marcado o antígeno ligado o capturado a una superficie sólida o esfera. Ejemplos de métodos de exhibición de fago que pueden utilizarse para preparar los anticuerpos descritos en el presente incluyen los descritos en Brinkman, U. et al (1995), *J. Immunol. Methods* 182: 41-50; Ames, R. S. et al (1995), *J. Immunol. Methods* 184: 177-186; Kettleborough, C. A. et al (1994), *Eur. J. Immunol.* 24: 952-958; Persic, L. et al (1997), *Gene* 187: 9-18; Burton, D. R. & Barbas, C. F. (1994), *Advan. Immunol.* 57: 191-280; Pedido PCT n° PCT/GB91/001134; Patentes Internacionales n° WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/11236, WO 95/15982, WO 95/20401 y WO 97/13844; y Patentes Norteamericanas n° 5.698.426, 5.223.409, 5.403.484, 5.580.717, 5.427.908, 5.750.753, 5.821.047, 5.571.698, 5.427.908, 5.516.637, 5.780.225, 5.658.727, 5.733.743 y 5.969.108.

[00399] Según lo descrito en las referencias arriba, luego de la selección de fagos, las regiones de codificación de anticuerpos del fago pueden aislarse y utilizarse para generar anticuerpos, incluyendo anticuerpos humanos, y ser expresados en cualquier hospedador deseado, incluyendo células de mamíferos, células de insectos, células vegetales, levaduras y bacterias, por ejemplo, según lo descrito abajo. Los métodos de producción recombinante de anticuerpos, como fragmentos de Fab, Fab' y F(ab')₂, pueden también emplearse utilizando los métodos conocidos en la materia, como los descritos en la Patente PCT n° WO 92/22324; Mullinax, R. L. et al (1992), *BioTechniques* 12 (6): 864-9; Sawai, H. et al (1995), *Am. J. Reprod. Immunol.* 34: 26-34; y Better, M. et al (1988), *Science* 240: 1041-1043.

[00400] En un aspecto, para generar anticuerpos, los primers de PCR, incluyendo secuencias de nucleótidos de la región variable de cadena ligera o pesada, un local de restricción y una secuencia lateral para proteger el local de restricción puede utilizarse para amplificar las secuencias de región variable de cadena pesada o ligera de un modelo, por ejemplo, clones de scFv. Utilizando los métodos de clonación conocidos por los expertos en la materia, las regiones variables de cadena pesada amplificadas por PCR pueden clonarse en vectores que expresan una región constante de cadena pesada y las regiones variables de cadena ligera amplificadas por PCR pueden clonarse en vectores que expresan una región constante de cadena ligera, como, por ejemplo, regiones constantes κ o λ humanas. Las regiones variables de cadena ligera y pesada pueden también clonarse en un vector que expresa las regiones constantes necesarias. Los vectores de conversión de cadena pesada y los vectores de conversión de cadena ligera son cotransfectados en seguida en líneas celulares para generar líneas celulares estables o transitorias que expresan anticuerpos, por ejemplo, IgG, utilizando métodos conocidos por los técnicos en la materia.

[00401] Un anticuerpo quimérico es una molécula en la cual distintas partes del anticuerpo son derivadas de distintas moléculas de inmunoglobulina. Un anticuerpo quimérico puede, por ejemplo, contener una región variable de un anticuerpo monoclonal de ratas o ratones fundida a una región constante de un anticuerpo humano. Los métodos de producción de anticuerpos quiméricos son conocidos en la materia. Véase, por ejemplo, Morrison, S. L. (1985), *Science* 229: 1202-7; Oi, V. T. & Morrison, S. L. (1986), *BioTechniques* 4: 214-221; Gillies, S. D. et al (1989), *J. Immunol. Methods* 125: 191-202; y Patentes Norteamericanas n° 5.807.715, 4.816.567, 4.816.397 y 6.331.415.

[00402] Un anticuerpo humanizado es capaz de ligarse a un antígeno previamente determinado y que comprende una región de cadena principal que posee substancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina humana y CDRs que posee substancialmente la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina no humana (por ejemplo, una inmunoglobulina murina). En realizaciones específicas, un anticuerpo humanizado también comprende al menos una parte de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente la de una inmunoglobulina humana. El anticuerpo puede también incluir las regiones CH1, de articulación, CH2, CH3 y CH4 de la cadena pesada. Un anticuerpo humanizado puede seleccionarse desde cualquier clase de inmunoglobulinas, incluyendo IgM, IgG, IgD, IgA e IgE y cualquier isotipo, incluyendo IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄. Anticuerpos humanizados pueden producirse utilizando una serie de métodos conocidos en la materia, incluyendo, pero sin limitación, injerto de CDR (Patente Europea nº EP 239400; Patente Internacional nº WO 91/09967; y Patentes Norteamericanas nº 5.225.539, 5.530.101 y 5.585.089), enchapado o rejuvenecimiento (Patentes Europeas nº EP 592106 y EP 519596; Padlan, E. A. (1991), *Mol. Immunol.* 28 (4/5): 489-498; Studnicka, G. M. et al (1994), *Prot. Engineering* 7 (6): 805-814; y Roguska, M. A. et al (1994), *PNAS* 91: 969-973), conmutación de cadenas (Patente Norteamericana nº 5.565.332) y métodos descritos, por ejemplo, en la Patente Norteamericana nº 6.407.213; Patente Norteamericana nº 5.766.886; Patente Internacional nº WO 93/17105; Tan, P. et al (2002), *J. Immunol.* 169: 1119-25; Caldas, C. et al (2000), *Protein Eng.* 13 (5): 353-60; Morea, V. et al (2000), *Methods* 20 (3): 267-79; Baca, M. et al (1997), *J. Biol. Chem.* 272 (16): 10678-84; Roguska, M. A. et al (1996), *Protein Eng.* 9 (10): 895-904; Couto, J. R. et al (1995), *Cancer Res.* 55 (23 Supl.): 5973s-5977s; Couto, J. R. et al (1995), *Cancer Res.* 55 (8): 1717-22; Sandhu, J. S. (1994), *Gene* 150 (2): 409-10 y Pedersen, J. T. et al (1994), *J. Mol. Biol.* 235 (3): 959-73. Véase también el Pedido Norteamericano publicado nº US 2005/0042664 A1 (24 de Febrero de 2005), que es integralmente incorporado al presente por referencia.

[00403] Anticuerpos de dominio simple, como, por ejemplo, anticuerpos que no poseen las cadenas ligeras, pueden producirse por medio de métodos bien conocidos en la materia. Véanse Riechmann, L. & Muyldermans, S. (1999), *J. Immunol.* 231: 25-38; Nuttall, S. D. et al (2000), *Curr. Pharm. Biotechnol.* 1 (3): 253-263; Muyldermans, S. (2001), *J. Biotechnol.* 74 (4): 277-302; Patente Norteamericana nº 6.005.079 y las Patentes Internacionales nº WO 94/04678, WO 94/25591 y WO 01/44301.

[00404] Adicionalmente, anticuerpos que se ligan específicamente a antígeno CTLA-4 y/o PD-1 pueden, a su vez, utilizarse para generar anticuerpos antiidiotípicos que simulan un antígeno utilizando métodos bien conocidos por los expertos en la materia (véanse, por ejemplo, Greenspan, N. S. & Bona, C. A. (1989), *FASEB J.* 7 (5): 437-444; y Nissinoff, A. (1991), *J. Immunol.* 147 (8): 2429-2438).

[00405] En realizaciones específicas, un anticuerpo o su fragmento de ligación de antígeno descrito en el presente, que se liga al mismo epítipo de CTLA-4 y/o PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 y/o PD-1 humano) como anticuerpo anti-CTLA-4 o anti-PD-1 o su fragmento de ligación de antígeno descrito en el presente es un anticuerpo humano. En realizaciones específicas, un anticuerpo descrito en el presente, que impide competitivamente (por ejemplo, en forma dependiente de la dosis) cualquier uno de los anticuerpos descritos en el presente de ligarse a CTLA-4 ó PD-1 (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1 humano) es un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanos pueden producirse utilizando cualquier método conocido en la técnica. Ratas transgénicas que son incapaces de expresar inmunoglobulinas endógenas funcionales, por ejemplo, pero pueden expresar genes de inmunoglobulina humana, pueden utilizarse. Particularmente, los complejos genéticos de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera humana pueden introducirse aleatoriamente o por recombinación homóloga en células madre embrionarias de ratas. Alternativamente, la región variable humana, región constante y región de diversidad pueden introducirse en células madre embrionarias de ratas aparte de los genes de cadena pesada y ligera humana. Los genes de inmunoglobulina de cadena pesada y ligera de ratas pueden tornarse separadamente o simultáneamente no funcionales con la introducción de locales de inmunoglobulina humana por recombinación homóloga. Particularmente, la exclusión homocigótica de la región J_H evita la producción de anticuerpos endógenos. Las células madre embrionarias modificadas son expandidas y microinyectadas en blastocistos para producir ratas quiméricas. Las ratas quiméricas son criadas en seguida para producir descendencia homocigótica que expresa anticuerpos humanos. Las ratas transgénicas son inmunizadas en forma normal con un antígeno seleccionado, como, por ejemplo, todo o parte de un antígeno (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1). Los anticuerpos monoclonales dirigidos al antígeno pueden obtenerse de las ratas transgénicas inmunizadas utilizando tecnología de hibridoma convencional. Los transgenes de inmunoglobulina humanos albergados por las ratas transgénicas se reorganizan durante la diferenciación de células B y, subsiguientemente, sufren mutación somática y

conmutación de clases. Así, utilizando ese método, es posible producir anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE terapéuticamente útiles. Para análisis de dicha tecnología para la producción de anticuerpos humanos, véase Lonberg, N. & Huszar, D. (1995), *Int. Rev. Immunol.* 13: 65-93. Para una discusión detallada de dicha tecnología de producción de anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales humanos y protocolos de producción de dichos anticuerpos, véanse, por ejemplo, las Patentes Internacionales n° WO 98/24893, WO 96/34096 y WO 96/33735; y las Patentes Norteamericanas n° 5.413.923, 5.625.126, 5.633.425, 5.569.825, 5.661.016, 5.545.806, 5.814.318 y 5.939.598. Ejemplos de ratas capaces de producir anticuerpos humanos incluyen Xenomouse® (Abgenix, Inc.; Patentes Norteamericanas n° 6.075.181 y 6.150.184); HuAb-Mouse® (Medarex, Inc./Gen. Pharm; Patentes Norteamericanas n° 5.545.806 y 5.569.825), Trans Chromo Mouse® (Kirin) y KM Mouse® (Medarex/Kirin).

[00406] Anticuerpos humanos o fragmentos de ligación de antígenos que se ligan específicamente a CTLA-4 y/o PD-1 (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos monoespecíficos o multiespecíficos que se ligan a CTLA-4 y/o PD-1 humano) pueden prepararse por una serie de métodos conocidos en la materia, incluyendo métodos de exhibición de fagos descritos arriba, utilizando bibliotecas de anticuerpos derivadas de secuencias de inmunoglobulina humana. Véanse también las Patentes Norteamericanas n° 4.444.887, 4.716.111 y 5.885.793; y Patentes Internacionales n° WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 y WO 91/10741.

[00407] En algunas realizaciones, los anticuerpos humanos pueden producirse utilizando hibridomas humanos-de ratas. Linfocitos de la sangre periférica humana transformados con virus Epstein-Barr (EBV), por ejemplo, pueden fundirse con células de mieloma de ratas para producir hibridomas humanos-de ratas que secretan anticuerpos monoclonales humanos y esos hibridomas humanos-de ratas pueden seleccionarse para determinar los que secretan anticuerpos monoclonales humanos que se ligan específicamente a un antígeno blanco (por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1, como, por ejemplo, CTLA-4 ó PD-1). Esos métodos son conocidos y descritos en la materia; véanse, por ejemplo, Shinmoto, H. et al (2004), *Cytotechnology* 46: 19-23; Naganawa, Y. et al (2005), *Human Antibodies* 14: 27-31.

[00408] Anticuerpos bivalentes biespecíficos y métodos de su producción son descritos, por ejemplo, en las Patentes Norteamericanas n° 5.731.168, 5.807.706, 5.821.333, y Pedidos Norteamericanos Publicados n° 2003/020734 y 2002/0155537, todos los cuales incorporados

integralmente al presente por referencia. Anticuerpos tetravalentes biespecíficos y métodos de su producción son descritos, por ejemplo, en los Pedidos Internacionales Publicados n° WO 02/096948 y WO 00/44788, cuyas descripciones son integralmente incorporadas al presente por referencia. Véanse, de forma general, los Pedidos Internacionales Publicados n° WO 93/17715, WO 92/08802, WO 91/00360 y WO 92/05793; Tutt et al, *J. Immunol.* 147: 60-69 (1991); las Patentes Norteamericanas n° 4.474.893, 4.714.681, 4.925.648, 5.573.920 y 5.601.819; y Kostelny et al, *J. Immunol.* 148: 1547-1553 (1992); todos los cuales incorporados integralmente al presente por referencia.

[00409] Un método de generación de anticuerpos biespecíficos ha sido denominado estrategia “perillas en agujeros” (véase, por ejemplo, la Patente Internacional WO 2006/028936). La falta de emparejar de cadenas pesadas de Ig es reducida en esta tecnología por la mutación de aminoácidos seleccionados que forman la interface de los dominios CH3 en IgG. En las posiciones en el dominio CH3 en que las dos cadenas pesadas interactúan directamente, un aminoácido con cadena lateral pequeña (agujero) es introducido en la secuencia de una cadena pesada y un aminoácido con una cadena lateral grande (perilla) en el local de residuo en interacción correspondiente sobre la otra cadena pesada. En algunas realizaciones, las composiciones descritas en el presente poseen cadenas de inmunoglobulina en que los dominios CH3 se han modificado por la mutación de aminoácidos seleccionados en interacción en la interface entre dos polipéptidos para formar un anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos pueden componerse de cadenas de inmunoglobulina de la misma subclase (por ejemplo, IgG1 ó IgG3) o subclases distintas (por ejemplo, IgG1 e IgG3, o IgG3 e IgG4).

[00410] En una realización, un anticuerpo biespecífico que se liga a CTLA-4 y/o PD-1 comprende una mutación T366W en la “cadena de perillas” y las mutaciones T366S, L368A e Y407V en la “cadena de agujero” y, opcionalmente, una puente de disulfuro intercadenas adicional entre los dominios CH3, por ejemplo, por la introducción de una mutación Y349C en la “cadena de perillas” y una mutación E356C o una mutación S354C en la “cadena de agujero”; las mutaciones R409D y K370E en la “cadena de perillas” y las mutaciones D399K y E357K en la “cadena de agujero”; las mutaciones R409D y K370E en la “cadena de perillas” y las mutaciones D399K y E357K en la “cadena de agujero”; una mutación T366W en la “cadena de perillas” y las mutaciones T366S, L368A e Y407V en la “cadena de agujero”; las mutaciones R409D y K370E en la “cadena de perillas” y las mutaciones D399K y E357K en la “cadena de

agujero”; las mutaciones Y349C y T366W en una de las cadenas y las mutaciones E356C, T366S, L368A e Y407V en la cadena correspondiente; las mutaciones Y349C y T366W en una cadena y las mutaciones S354C, T366S, L368A e Y407V en la cadena correspondiente; y las mutaciones Y349C y T366W en una cadena y las mutaciones S354C, T366S, L368A e Y407V en la cadena correspondiente, numeración según el sistema de numeración EU.

[00411] Anticuerpos biespecíficos que se ligan a CTLA-4 y/o PD-1 pueden, en algunos casos, contener heterodímeros de cadena IgG4 e IgG1, IgG4 e IgG2, IgG4 e IgG2, IgG4 e IgG3 ó IgG1 e IgG3. Dichos anticuerpos de cadena pesada heterodiméricos pueden elaborarse en forma rutinera, por ejemplo, por modificación de aminoácidos seleccionados que forman la interface de los dominios CH3 en IgG4 humano e IgG1 ó IgG3, para favorecer la formación de cadenas pesadas heterodiméricas.

En realizaciones específicas, un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, biespecífico) puede ser un anticuerpo quimérico o un anticuerpo humanizado. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico (por ejemplo, biespecífico) puede ser un fragmento F(ab')₂. Un fragmento de F(ab')₂ contiene los dos brazos de ligación de antígeno de una molécula de anticuerpo tetramérico ligada por ligaciones de disulfuro en la región de articulación.

[00412] Los anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) descritos en el presente pueden generarse por cualquier método conocido de los expertos en la materia. Los fragmentos de F(ab')₂ descritos en el presente, por ejemplo, pueden producirse por división proteolítica de moléculas de inmunoglobulina, utilizando enzimas como pepsina.

6.6 Kits:

[00413] Son también suministrados kits que comprenden uno o más anticuerpos descritos en el presente o su combinación terapéutica, composición farmacéutica o conjugados. En una realización específica, es suministrado en el presente un kit o empaque farmacéutico que comprende uno o más recipientes llenos con uno o más ingredientes de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente, como uno o más anticuerpos suministrados en el presente. En algunas realizaciones, los kits contienen una o más composiciones farmacéuticas descritas en el presente y cualquier agente profiláctico o terapéutico, como los descritos en el presente. En algunas realizaciones, los kits pueden contener un mitógeno de células T, como, por ejemplo, fitohemaglutinina (PHA) y/o acetato miristato de forbol (PMA) o un anticuerpo estimulante del complejo de TCR, como un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28. Un aviso en la

forma prescrita por una agencia del gobierno que reglamenta la fabricación, el uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos puede asociarse a ese(esos) recipiente(s), en que ese aviso informa la aprobación por la agencia de la fabricación, el uso o la venta para administración humana.

[00414] En algunas realizaciones, el kit comprende un recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CTLA-4/PD-1 descrito en el presente.

[00415] En algunas realizaciones, el kit comprende un primer recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CTLA-4 y un segundo recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-PD-1. La combinación del anticuerpo anti-CTLA-4 y del anticuerpo anti-PD-1 puede ser cualquier combinación de un anticuerpo anti-CTLA-4 descrito en el presente y un anticuerpo anti-PD-1 descrito en el presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un primer recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo comprende las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 11. En algunas realizaciones, el kit comprende un primer recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del primer anticuerpo y CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo anticuerpo comprenden, respectivamente, las secuencias de aminoácidos discriminadas en SEQ ID N° 20, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 32, 37, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 27, 30, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 24, 29, 33, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 28, 31, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 34, 36, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 20, 22, 24, 29, 35, 38, 75, 76, 80, 83, 84 y 85; 21, 22, 26, 27, 30, 36, 75, 76, 80,

[00416] En algunas realizaciones, el kit comprende un primer recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo y la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo comprenden las secuencias de aminoácidos relacionadas en una sola línea de la Tabla 12. En algunas realizaciones, el kit comprende un primer recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) y un segundo recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano), en que la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del primer anticuerpo y la región variable de cadena pesada y la región variable de cadena ligera del segundo anticuerpo comprenden, respectivamente, las secuencias de aminoácidos establecidas en SEQ ID N° 1, 14, 67 y 74; 1, 16, 67 y 74; 1, 17, 67 y 74; 9, 14, 67 y 74; 9, 17, 67 y 74; 10, 15, 67 y 74; 10, 17, 67 y 74; 10, 18, 67 y 74; 10, 19, 67 y 74; 11, 15, 67 y 74; 11, 14, 67 y 74; 11, 16, 67 y 74; 11, 17, 67 y 74; 12, 14, 67 y 74; 12, 16, 67 y 74; 12, 17, 67 y 74; 12, 19, 67 y 74; 13, 15, 67 y 74; 13, 17, 67 y 74; 1, 14, 66 y 74; 1, 16, 66 y 74; 1, 17, 66 y 74; 9, 14, 66 y 74; 9, 17, 66 y 74; 10, 15, 66 y 74; 10, 17, 66 y 74; 10, 18, 66 y 74; 10, 19, 66 y 74; 11, 15, 66 y 74; 11, 14, 66 y 74; 11, 16, 66 y 74; 11, 17, 66 y 74; 12, 14, 66 y 74; 12, 16, 66 y 74; 12, 17, 66 y 74; 12, 19, 66 y 74; 13, 15, 66 y 74; 13, 17, 66 y 74; 1, 14, 68 y 74; 1, 16, 68 y 74; 1, 17, 68 y 74; 9, 14, 68 y 74; 9, 17, 68 y 74; 10, 15, 68 y 74; 10, 17, 68 y 74; 10, 18, 68 y 74; 10, 19, 68 y 74; 11, 15, 68 y 74; 11, 14, 68 y 74; 11, 16, 68 y 74; 11, 17, 68 y 74; 12, 14, 68 y 74; 12, 16, 68 y 74; 12, 17, 68 y 74; 12, 19, 68 y 74; 13, 15, 68 y 74; 13, 17, 68 y 74; 1, 14, 69 y 74; 1, 16, 69 y 74; 1, 17, 69 y 74; 9, 14, 69 y 74; 9, 17, 69 y 74; 10, 15, 69 y 74; 10, 17, 69 y 74; 10, 18, 69 y 74; 10, 19, 69 y 74; 11, 15, 69 y 74; 11, 14, 69 y 74; 11, 16, 69 y 74; 11, 17, 69 y 74; 12, 14, 69 y 74; 12, 16, 69 y 74; 12, 17, 69 y 74; 12, 19, 69 y 74; 13, 15, 69 y 74; 13, 17, 69 y 74; 1, 14, 70 y 74; 1, 16, 70 y 74; 1, 17, 70 y 74; 9, 14, 70 y 74; 9, 17, 70 y 74; 10, 15, 70 y 74; 10, 17, 70 y 74; 10, 18, 70 y 74; 10, 19, 70 y 74; 11, 15, 70 y 74; 11, 14, 70 y 74; 11, 16, 70 y 74; 11, 17, 70 y 74; 12, 14, 70 y 74; 12, 16, 70 y 74; 12, 17, 70 y 74; 12, 19, 70 y 74; 13, 15, 70 y 74; 13, 17, 70 y 74; 1, 14, 71 y 74; 1, 16, 71 y 74; 1, 17, 71 y 74; 9, 14, 71 y 74; 9, 17, 71 y 74;

10, 15, 71 y 74; 10, 17, 71 y 74; 10, 18, 71 y 74; 10, 19, 71 y 74; 11, 15, 71 y 74; 11, 14, 71 y 74; 11, 16, 71 y 74; 11, 17, 71 y 74; 12, 14, 71 y 74; 12, 16, 71 y 74; 12, 17, 71 y 74; 12, 19, 71 y 74; 13, 15, 71 y 74; 13, 17, 71 y 74; 1, 14, 72 y 74; 1, 16, 72 y 74; 1, 17, 72 y 74; 9, 14, 72 y 74; 9, 17, 72 y 74; 10, 15, 72 y 74; 10, 17, 72 y 74; 10, 18, 72 y 74; 10, 19, 72 y 74; 11, 15, 72 y 74; 11, 14, 72 y 74; 11, 16, 72 y 74; 11, 17, 72 y 74; 12, 14, 72 y 74; 12, 16, 72 y 74; 12, 17, 72 y 74; 12, 19, 72 y 74; 13, 15, 72 y 74; 13, 17, 72 y 74; 1, 14, 73 y 74; 1, 16, 73 y 74; 1, 17, 73 y 74; 9, 14, 73 y 74; 9, 17, 73 y 74; 10, 15, 73 y 74; 10, 17, 73 y 74; 10, 18, 73 y 74; 10, 19, 73 y 74; 11, 15, 73 y 74; 11, 14, 73 y 74; 11, 16, 73 y 74; 11, 17, 73 y 74; 12, 14, 73 y 74; 12, 16, 73 y 74; 12, 17, 73 y 74; 12, 19, 73 y 74; 13, 15, 73 y 74; ó 13, 17, 73 y 74.

[00417] En algunas realizaciones, el kit comprende un primer recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un primer anticuerpo que se liga específicamente a CTLA-4 (por ejemplo, CTLA-4 humano) descrito en el presente y un segundo recipiente lleno con una composición farmacéutica que comprende un segundo anticuerpo que se liga específicamente a PD-1 (por ejemplo, PD-1 humano) descrito en el presente, en que una combinación terapéutica del primer anticuerpo y el segundo anticuerpo se encuentra en cantidad eficaz. La cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en ese kit puede ser menor, igual o más alta que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-CTLA-4 administradas aisladamente y la cantidad del anticuerpo anti-PD-1 en ese kit puede ser menor, igual o más alta que las cantidades eficaces del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad del anticuerpo anti-CTLA-4 en este kit es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad del anticuerpo anti-PD-1 en este kit es más baja que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 administrado aisladamente. En algunas realizaciones, la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 en este kit es menor que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-CTLA-4 administrado aisladamente y la cantidad del anticuerpo anti-PD-1 en este kit es menor que la cantidad eficaz del anticuerpo anti-PD-1 aislado.

7. EJEMPLOS

[00418] Los ejemplos de este Capítulo (o sea, el Capítulo 6) son ofrecidos como forma de ilustración y no como forma de limitación.

7.1 Ejemplo 1: Combinación del anticuerpo anti-CTLA-4 y anticuerpo anti-PD-1.

[00419] Este ejemplo caracteriza la actividad funcional de combinación de un anticuerpo

antagonista anti-CTLA-4 con un anticuerpo antagonista anti-PD-1. As secuencias de longitud total de los anticuerpos testados son exhibidas en la Tabla 14.

Tabla 14. Secuencias con longitud total de anticuerpo anti-CTLA-4 y anticuerpo anti-PD-1:

Anticuerpo	Cadena pesada SEQ ID N°	Cadena ligera SEQ ID N°
AGEN1884 (IgG ₁)	51	59
AGEN2034 (IgG ₄ S228P)	91	93

7.1.1 Titulaciones de dosis de anticuerpo anti-CTLA-4 en combinación con anticuerpo anti-PD-1.

[00420] En una serie de experimentos, la actividad funcional del anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) administrado en concentraciones variables, en combinación con una concentración fija del anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P), ha sido testada en células mononucleares de la sangre periférica humana (PBMCs).

[00421] En un primer experimento, células mononucleares de la sangre periférica (PBMCs) humanas se han estimulado con concentración inferior a la ideal (100 ng/ml) del superantígeno Enterotoxina A de *Staphylococcus* (SEA) (Toxin Technologies, cat. n° at101red) en la presencia de titulación de dosis de un anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₁) en combinación con 10 µg/ml de un anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o un anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P) por cinco días a 37 °C y CO₂ a 5%. Las concentraciones de IL-2 en el sobrenadante de cultivo han sido analizadas por AlphaLISA (Perkin Elmer, Cat. n° AL221F). PBMCs de dos donadores distintos han sido testadas.

[00422] Según lo exhibido en las Figuras 1A y 1B, el anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) ha estimulado la producción de IL-2 en forma dependiente de la dosis. La combinación con el anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) ha incrementado adicionalmente la secreción de IL-2 inducida por el anticuerpo anti-CTLA-4 aislado.

[00423] En segundo experimento, PBMCs humanas criopreservadas se han colocado en placas a 10⁵ células/cavidad en medio (RPMI1640 suplementado con Normocin® (Invivogen #ant-nr) y FBS desactivado por calor a 10% (Gibco, Invitrogen Corporation). Las células se han estimulado con concentración inferior a la ideal (100 ng/ml) del superantígeno SEA (Toxin Technologies, Cat. n° at101red) en la presencia de un rango de dosis (100 – 0,001 µg/ml) de anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) en combinación con una concentración de

anticuerpo fija de 20 µg/ml de (i) anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o (ii) un anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P). Las células se han incubado por cinco días a 37 °C en CO₂ a 5%. Las concentraciones de IL-2 en el sobrenadante de cultivo se han analizado por AlphaLISA (Perkin Elmer, Cat. n° AL221F). PBMCs de dos donadores distintos han sido testadas.

[00424] Según lo exhibido en las Figuras 2A y 2B, la combinación de AGEN1884 (IgG₁) y AGEN2034 (IgG₄ S228P) ha incrementado la secreción de IL-2 por PBMCs estimuladas con relación a AGEN1884 (IgG₁) y control de isotipo. Dicho efecto se ha observado en PBMCs de los dos donadores.

7.1.2 Actividad funcional de anticuerpo anti-CTLA-4 y anticuerpo anti-PD-1 en concentraciones fijas.

[00425] En cada uno de dos experimentos, la actividad funcional de concentraciones fijas del anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) se ha ensayado en PBMCs de seis donadores humanos distintos. Cinco de los seis donadores han sido idénticos entre los dos experimentos (donadores 5, 7, 8, 9 y 10). Los donadores restantes han sido distintos entre los dos experimentos (donadores 6 y 11, según lo exhibido en las Figuras 3 y 4, respectivamente).

[00426] En cada experimento, PBMCs humanas criopreservadas de seis donadores saludables se han colocado en placas a 10⁵ células/cavidad en medio (RPMI1640 suplementado con Normocin® (Invivogen #ant-nr) y FBS desactivado por calor a 10% (Gibco, Invitrogen Corporation)). Las PBMCs se han estimulado con concentración inferior a la ideal (100 ng/ml) del superantígeno SEA (Toxin Technologies, Cat. n° at101red) en la presencia de 10 µg/ml de (i) anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) o (ii) un anticuerpo control de isotipo (IgG₁) en combinación con 10 µg/ml de (i) anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) o (ii) un anticuerpo control de isotipo (IgG₄ S228P). Las células se han incubado por cinco días a 37 °C en CO₂ a 5%. Los sobrenadantes clarificados se han colectado y almacenado a -80 °C hasta el análisis. Las concentraciones de IL-2 en el sobrenadante de cultivo se han analizado por AlphaLISA (Perkin Elmer, Cat. n° AL221F).

[00427] Según lo exhibido en las Figuras 3 y 4, anticuerpo AGEN2034 anti-PD1 (IgG₄ S228P) y anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) se han combinado consistentemente para incrementar la secreción de IL-2 en cultivos de PBMCs humanas activadas a niveles superiores a

los observados para cada uno de esos anticuerpos aislados. Dicho incremento se ha observado en PBMCs obtenidas de siete donadores humanos distintos.

7.1.3 Anticuerpo anti-CTLA-4 y anticuerpo anti-PD-1 se combinan para incrementar la activación y proliferación de células T de memoria central en primatas no humanos.

[00428] En ese ejemplo, monos cynomolgus han recibido la administración de anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) en combinación con el anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) y se ha determinado la alteración de la activación y proliferación de células T de memoria central en tres días después del tratamiento.

[00429] Cuatro monos cynomolgus se han tratado con AGEN1884 (IgG₁) en combinación con AGEN2034 (IgG₄ S228P). Para cada mono, 10 mg/kg de AGEN1884 (IgG₁) han sido administrados en primer lugar por vía intravenosa (mistura lenta) con llave de cierre sin primer, inmediatamente seguido por 3 mg/kg de AGEN2034 (IgG₄ S228P) administrado de la misma forma. Luego de la administración de anticuerpo, 3 ml de flujo salino han sido conducidos por la mistura y llave de cierre para garantizar la administración de la cantidad total y correcta de material de ensayo. La cantidad de dosis para cada animal se ha basado en su medición más reciente del peso del cuerpo. Se ha restringido temporalmente la administración de la dosis a los animales, que no han sido sedados. El primer día de dosis se ha designado Día 1. Las muestras de sangre (2 ml) se han colectado para aislar PBMCs y para el análisis de citometría de flujo antes de la dosis en el Día -14 (3 animales) o Día -7 (1 animal), bien como tres días después de la dosis. La Figura 5A exhibe la estrategia de compuerta para definir cada una de las poblaciones de células T mensuradas – o sea, células T ingenuas CD4 (CD3+, CD4+, CD28+, CD95-), células T ingenuas CD8 (CD3+, CD8+, CD28+, CD95-), células T de memoria central CD4 (CD3+, CD4+, CD28+, CD95+), células T de memoria central CD8 (CD3+, CD8+, CD28+, CD95+), células T de memoria efectora CD4 (CD3+, CD4+, CD28-, CD95+) y células T de memoria efectora CD8 (CD3+, CD8+, CD28-, CD95+). Las Figuras 5B y 5C exhiben los datos de citometría de flujo representativos para la expresión de Ki67 e ICOS en células T de memoria central CD4+ y CD8+, en muestras antes de la dosis (Día -14) y en tres días luego de la administración de anticuerpos para un animal en el estudio. Se ha concluido que la activación y proliferación de células T es elevada en las poblaciones de células T de memoria central CD4+ y CD8+ tres días luego del tratamiento de anticuerpo, con relación a los niveles antes de la dosis.

[00430] Según lo exhibido en las Figuras 6A-6D, los monos cynomolgus han recibido la

administración del anticuerpo anti-CTLA-4 AGEN1884 (IgG₁) y el anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 (IgG₄ S228P) ha exhibido incremento substancial en las células T de memoria central ICOS⁺ y Ki67⁺ tres días después de la administración del anticuerpo, con relación a las muestras antes de la dosis. Estos resultados incluyen los datos exhibidos en la Figura 5 para uno de los animales en el estudio. Un incremento estadísticamente significativo en las poblaciones activadas y en proliferación se ha observado para las células T de memoria central CD8⁺ (Figuras 6C y 6D). Estos datos demuestran que el tratamiento de combinación de AGEN1884 (IgG₁) y AGEN2034 (IgG₄ S228P) ha incrementado la activación y la proliferación de células T de memoria central.

7.2 Ejemplo 2: Mapeo de epítomos de anticuerpo anti-CTLA-4.

[00431] La interacción del fragmento de Fab de AGEN1884 (AGEN1884-Fab) con el dominio extracelular de CTLA-4 humano se ha estudiado por espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno y deuterio (HDX). El dominio extracelular de CTLA-4 aisladamente o en combinación con AGEN1884-Fab, en solución salina tamponada con fosfato bajo pH 7,4, se ha diluido con una cantidad diez veces más alta de tampón de marca óxido de deuterio e incubado por períodos de tiempo variables (0, 60, 300, 1800 y 7200 segundos) a la temperatura ambiente. El intercambio de deuterio para hidrógeno ha sido resfriado por la adición de una cantidad de 4 M de clorhidrato de guanidina, 0,85 M de tampón TCEP (tris(2-carboxietil)fosfina) y el pH final ha sido de 2,5. Las muestras han sido sometidas a la digestión de pepsina/proteasa del tipo XIII en columna y análisis LC-MS. Los espectros de masa se han registrado en modo solo de MS. Para el cálculo de la incorporación de deuterio, los espectros de masa para un dado péptido se han combinado por medio del pico de cromatograma iónico extraído y se ha calculado el peso ponderado m/z. El incremento de masa de la masa del péptido nativo (0 minutos) para la masa media ponderada corresponde al nivel de la incorporación de deuterio. Las curvas de acúmulo de deuterio por el tiempo de intercambio para todos los péptidos han sido plotadas para análisis adicional y han sido comparadas con el software HDExaminer.

[00432] La mayor parte de los péptidos CTLA-4 ha exhibido niveles de deuterio idénticos o similares con y sin la presencia del Fab anti-CTLA-4 humano. Sin embargo, se ha concluido que varios segmentos de péptidos presentan incorporación de deuterio significativamente reducida mediante la ligación de Fab. Todos los residuos en este párrafo son numerados según SEQ ID N° 96. Dos regiones, los residuos 80-82 (QVT, SEQ ID N° 102) y residuos 135-149

(YPPPPYYLGIGNGTQI, SEQ ID N° 100), han experimentado fuerte protección de deuterio con la ligación de CTLA-4 humano a Fab. La reducción más fuerte de la absorción de deuterio se ha observado en los residuos 140-141 (YL) que así aparentemente es una característica importante del epítipo de AGEN1884 sobre CTLA-4. La inspección de las secuencias de CTLA-4 de mono cynomolgus y humano, ambos fuertemente ligados por AGEN1884 (datos no exhibidos), demuestra la identidad de secuencias casi completa en las dos regiones descritas arriba, excepto por la substitución de metionina por leucina en la posición 141 (Figura 7A). Al contrario, AGEN1884 no se liga en forma significativa a CTLA-4 de ratas o ratones (datos no exhibidos) distintos de CTLA-4 humano en los residuos 140-143 (YLGI, SEQ ID N° 97) en tres entre cuatro posiciones (Figura 7A). Datos de selectividad adicionales demuestran que AGEN1884 se liga con alta especificidad a CTLA-4 humano y de mono cynomolgus y no a otros miembros de la familia CD28 relacionados, incluyendo CD28, ICOS, BTLA y PD-1 (datos no exhibidos). La comparación de secuencias entre esas proteínas relacionadas demuestra que todas las proteínas no de CTLA-4 son distintas en los residuos 140-143 (YLGI, SEQ ID N° 97) (Figura 7B), que sustenta adicionalmente la importancia de ese epítipo a la ligación de AGEN1884.

7.3 Ejemplo 3: Mapeo de epítipos de anticuerpo anti-PD-1.

[00433] El epítipo del anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 se ha caracterizado utilizando la espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno y deuterio (HDX) y análisis Pepscan.

7.3.1 Mapeo de epítipos de Fab anti-PD-1 utilizando espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno y deuterio (HDX).

[00434] La interacción del fragmento de Fab de AGEN2034 (AGEN2034-Fab) con el dominio extracelular de PD-1 humano se ha estudiado por espectrometría de masa de intercambio de hidrógeno y deuterio (HDX).

[00435] PD-1 humano marcado por His recombinante se ha obtenido por medio de Sino Biological Inc. (Cat. n° 10377-H08H). PD-1 desglicosilado, cuando utilizado, se ha preparado con 300 µg de proteína PD-1 humana marcada por His recombinante incubada con 6 µl de PNGase F a 37 °C por 4 horas. El fragmento de Fab de un anticuerpo anti-PD-1 se ha preparado con AGEN2034 por tratamiento de proteasa.

[00436] Para digestión de pepsina/proteasa XVIII, 4,0 µg de PD-1 humano nativo o desglicosilado en 125 µl de tampón control (50 mM de fosfato y 100 mM de cloruro de sodio a pH 7,4) han sido desnaturalizados por la adición de 135 µl de 4 M clorhidrato de guanidina, 0,85 M

de tampón TCEP (pH final 2,5) e incubación de la mezcla por tres minutos a 11 °C. La muestra se ha sometido en seguida a digestión de pepsina/proteasa XVIII en columna utilizando una columna de pepsina/proteasa XVIII empacada doméstica y los péptidos resultantes se han analizado utilizando un sistema UPLC-MS compuesto de UPLC Waters Acquity acoplado a Espectrómetro de Masa Quadrupole-Orbitrap Híbrido Q Exactive® (Thermo). Los péptidos se han separado sobre una columna de 50 mm x 1 mm C8 con gradiente de 19 minutos con 2-27% solvente B (0,2% ácido fórmico en acetonitrila). La identificación de péptido ha sido realizada por búsqueda de datos MS/MS contra la secuencia PD-1 humana con Mascot. La tolerancia de masa para los iones de precursor y de producto ha sido de 10 ppm y 0,05 Da, respectivamente.

[00437] 10 µl de PD-1 humano (4,0 µg) ó 10 µl de mezcla de PD-1 humano y Fab (4,0 µg; 4,0 µg) han sido incubados con 125 µl de tampón de marca de óxido de deuterio (50 mM de fosfato de sodio, 100 mM de cloruro de sodio bajo pH 7,4) por 0 segundos, 60 segundos, 600 segundos y 3600 segundos a 11 °C. El intercambio de deuterio/hidrógeno ha sido resfriado por la adición de 135 µl de 4 M de clorhidrato de guanidina, 0,85 M de tampón TCEP y el pH final ha sido de 2,5. En seguida, las muestras resfriadas han sido sometidas a digestión de pepsina/proteasa XVIII de columna y análisis LC-MS según lo descrito arriba. Los espectros de masa se han registrado en modo solo de MS.

[00438] Los datos de MS brutos han sido procesados utilizando HDX WorkBench, el software para análisis de datos de MS de intercambio H/D (*J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2012, 23 (9), 1512-1521, integralmente incorporado al presente por referencia). Los niveles de deuterio han sido calculados utilizando la diferencia de masa media entre el péptido deuterado y su forma nativa (t_0).

[00439] Cobertura de secuencias de 85,4% ha sido atingida para PD-1 humano desglicosilado sin marca His. La mayor parte de los péptidos PD-1 ha exhibido niveles de deuterio idénticos o similares con y sin la presencia de Fab anti-PD-1 humano. Sin embargo, se ha concluido que varios segmentos de péptidos presentan incorporación de deuterio significativamente reducida mediante la ligación de Fab. Todos los residuos en este párrafo son numerados según SEQ ID N° 96. PD-1 humano desglicosilado ha exhibido fuerte reducción de la absorción de deuterio por ligación a Fab anti-PD-1 humano en los residuos 127-142 (SLAPKAQIKESLRAEL, SEQ ID N° 103). Adicionalmente, se ha observado reducción de la absorción de deuterio en los residuos 25-42 (LDSPDRPWNPPPTFSPALL) (SEQ ID N° 104) por ligación a Fab anti-PD-1 humano.

7.3.2 Mapeo de epítomos de anticuerpo anti-PD-1 utilizando análisis Pepscan.

[00440] La ligación del anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 ha sido medida contra fragmentos de péptido PD-1 sintetizados preparados como un conjunto de péptidos delimitado por chip. El análisis ha sido realizado por Pepscan Presto BV, Lelystad, Países Bajos. Resumidamente, para reconstruir epítomos de PD-1 humano, se ha sintetizado una biblioteca de péptidos. Se ha obtenido un soporte de polipropileno con funcionalización amino por injerto con una formulación de polímero hidrofílico patentada, seguida por reacción con t-butiloxicarbonilhexametilenodiamina (BocHMDA) utilizando diciclohexilcarbodiimida (DCC) con N-hidroxibenzotriazol (HOBt) y la subsiguiente división de los grupos Boc utilizando ácido trifluoroacético (TFA). La síntesis de péptido Fmoc estándar ha sido utilizada para sintetizar péptidos sobre el soporte sólido con funcionalización amino por estaciones de manipuleo de líquidos JANUS modificadas específicas (Perkin Elmer). La síntesis de imitaciones estructurales ha sido conducida utilizando la tecnología de Péptidos Químicamente Ligados sobre Estructuras (CLIPS) patentada por Pepscan. La tecnología CLIPS permite estructurar péptidos en circuitos aislados, circuitos dobles, circuitos triplos, doblas en forma de hojas, doblas en forma de hélices y sus combinaciones. La ligación de anticuerpo a cada uno de los péptidos sintetizados ha sido testada en ELISA con base en PEPSCAN. Los conjuntos de péptidos han sido incubados con una solución de anticuerpo primario por una noche a 4 °C. Luego del lavado, los conjuntos de péptidos se han incubado con un conjugado anti-HRP humano de cabra (Southern Biotech, Cat. n° 2010-05) por una hora a 25 °C. Luego del lavado, se han adicionado el sustrato de peroxidasa sulfonato de 2,2'-azino-di-3-etilbenzotiazolina (ABTS) y 20 µl/ml de H₂O₂ a 3%. Después de una hora, el desarrollo de color ha sido medido y cuantificado con un dispositivo acoplado a carga (CCD) - cámara y un sistema de procesamiento de imágenes.

[00441] El estudio Pepscan ha demostrado que el anticuerpo anti-PD-1 AGEN2034 ha reconocido tramos de PD-1 humano, incluyendo los residuos 26-35 (DSPDRPWNP, SEQ ID N° 105), residuos 150-158 (EVPTAHPSP, SEQ ID N° 106) y residuos 126-133 (ISLAPKAQ, SEQ ID N° 107), numerados según SEQ ID N° 96.

[00442] La presente invención no debe tener su alcance limitado por las realizaciones específicas descritas en el presente. En verdad, varias modificaciones de la presente invención aparte de las descritas serán evidentes para los expertos en la materia por la descripción arriba y las figuras adjuntas. Esas modificaciones se destinan a encuadrarse en el alcance de las

reivindicaciones adjuntas.

[00443] Todas las referencias (por ejemplo, publicaciones, patentes o pedidos de patente) mencionadas en el presente son integralmente incorporadas al presente por referencia y para todos los propósitos, de la misma forma como si cada referencia individual (por ejemplo, publicación, patente o pedido de patente) hubiera sido específicamente e individualmente indicada como integralmente incorporada por referencia para todos los propósitos.

[00444] Otras realizaciones encuéntrase en las reivindicaciones abajo.