

MÉTODOS DE TRATAMIENTO DEL CÁNCER CON FUSIÓN FC DE SIRP ALFA EN COMBINACIÓN CON UN INHIBIDOR DEL PUNTO DE CONTROL INMUNITARIO

REFERENCIA CRUZADA CON SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 **[0001]** Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos n.º 62/855,821, presentada el 31 de mayo de 2019 y la Solicitud Provisional de los Estados Unidos n.º 63/022,187, presentada el 8 de mayo de 2020, el contenido de cada una de las cuales se incorpora aquí mediante esta referencia en su totalidad.

PRESENTACIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIAS EN ARCHIVO DE TEXTO ASCII

- 10 **[0002]** El contenido del siguiente archivo de texto ASCII presentado se incorpora a la presente en su totalidad mediante esta referencia: un formulario legible en computadora (CRF) de listado de secuencias (nombre del archivo: 757972001040SEQLIST.TXT, fecha registrado: 26 de mayo, 2020, archivo: 333 KB).

CAMPO DE LA INVENCION

- 15 **[0003]** La presente invención se refiere a métodos para tratar el cáncer que comprenden administrar un polipéptido (por ejemplo, un polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc junto con un anticuerpo terapéutico.

ANTECEDENTES

- 20 **[0004]** Muchos tipos de cáncer tienen un pronóstico desfavorable, incluso cuando se tratan con los tratamientos disponibles. Por ejemplo, los pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) con enfermedad metastásica que reciben inhibidores de los puntos de control de PD-1 y PD-L1 que no han respondido a las terapias previas basadas en platino tienen una tasa de supervivencia general media de aproximadamente un año (Garon *et ál.*, New Engl J Med (2015) 372:2018-28; Herbst *et ál.*, Lancet (2016) 387:1540-50; Fehrenbacher *et ál.*, Lancet (2016) 387(10030):1837-46) y más de
25 la mitad de los pacientes NSCLC con enfermedad en estadio avanzado tienen una tasa de supervivencia general a 5 años del 17,7 % (Grupo de Trabajo de Estadísticas del Cáncer de EE. UU., disponible en el sitio web [www\(dot\)cdc\(dot\)gov/uscs](http://www(dot)cdc(dot)gov/uscs)). De manera similar, la tasa de supervivencia general a 5 años para los pacientes con cáncer gástrico en los Estados Unidos es del 30,4 % (Grupo de Trabajo de Estadísticas del Cáncer de EE. UU.). En pacientes con linfomas indolentes recidivante,
30 las recaídas subsiguientes suelen ocurrir con histologías cada vez más agresivas y un riesgo de

transformación del 30 % a los 10 años en una serie (Montoto *et ál.*, J Clin Oncol (2007) 25 (17): 2426-33). Además, para los pacientes con histologías agresivas recurrentes, la curación es rara y se necesitan nuevos regímenes de rescate (Larouche *et ál.*, J Clin Oncol (2010) 28(12):2094-100). El linfoma no Hodgkin (NHL) positivo para CD20 como el décimo cáncer más común a nivel mundial, es también la décima causa principal de muerte por cáncer, lo que representa 199.670 muertes por año en todo el mundo (Organización Mundial de la Salud 2016(a), disponible en el sitio web [globocan\(dot\)iarc\(dot\)fr/Pages/fact_sheets_cancer\(dot\)aspx](http://globocan(dot)iarc(dot)fr/Pages/fact_sheets_cancer(dot)aspx)). Se estima que hay más de 35.000 personas que viven en los EE. UU. con HNSCC metastásico, con más de 50.000 casos de incidentes nuevos en todas las etapas diagnosticados en 2019. La supervivencia a cinco años es del 84 % para los pacientes diagnosticados con enfermedad localizada pero disminuye a solo 39 % para los diagnosticados con enfermedad metastásica. Existe una necesidad en la técnica de nuevos tratamientos para proporcionar opciones terapéuticas adicionales y mejorar los resultados para tales pacientes.

[0005] Las células tumorales manipulan el compartimento mieloide para evadir la respuesta inmune antitumoral del huésped (Gabrilovich *et ál.*, Nat Rev Immunol (2012) 12(4):253-68). Por ejemplo, mientras que la CD47 expresada en la superficie de las células normales se une a SIRP α en los macrófagos y proporciona una señal de «no me comas», también se ha descubierto que las células tumorales sobreexpresan CD47 para evadir el componente de macrófagos de la vigilancia inmunitaria (Oldenborg, ISRN Hematol (2013) 614619).

[0006] La destrucción de células cancerosas mediada por macrófagos requiere tanto la interrupción de las señales de «no me comas» (por ejemplo, CD47-SIRP α) como la activación de las señales de «cómeme». Ninguno de los componentes por sí solo es suficiente para desencadenar una reacción fagocítica máxima contra las células tumorales. Como se describió anteriormente, CD47 proporciona una señal fundamental de «no me comas» a través de su interacción con SIRP α en los macrófagos. La señal profagocítica de «cómeme» se puede proporcionar a los mismos macrófagos uniéndose a sus receptores gamma Fc activadores. Por ejemplo, la señal profagocítica de «cómeme» puede proporcionarse mediante la unión de anticuerpos antitumorales a receptores Fc en macrófagos.

[0007] Todas las referencias citadas en la presente, inclusive solicitudes de patente, publicaciones de patente y números de acceso UniProtKB/Swiss-Prot se incorporan en su totalidad mediante referencia como si cada referencia individual se indicara específica e individualmente como incorporada mediante referencia.

COMPENDIO DE LA INVENCION

[0008] Se proporciona un método para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-PD-1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el NSCLC en el individuo ha progresado con una terapia previa con inhibidores de puntos de control inmunológico (CPI) y/o tiene una puntuación de proporción de tumores PD-L1 (TPS) de menos del 50 %.

[0009] También se proporciona un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar NSCLC en un individuo, donde el medicamento es para uso (tal como formulado para uso) en combinación con un anticuerpo anti-PD1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el NSCLC en el individuo ha progresado con una terapia previa con inhibidores de puntos de control inmunológico (CPI) y / o tiene una puntuación de proporción de tumores PD-L1 (TPS) de menos del 50 %.

[0010] También se proporciona una composición (como una composición farmacéutica) que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para tratar NSCLC en un individuo (por ejemplo, para su uso en un método para tratar NSCLC en un individuo), donde la variante del

dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el NSCLC en el individuo ha progresado con una terapia previa con inhibidores de puntos de control inmunológico (CPI) y / o tiene una puntuación de proporción de tumores PD-L1 (TPS) de menos del 50 %,

[0011] En algunas realizaciones, la CPI (terapia inhibidora del punto de control inmunitario) anterior comprendía uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en: nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, avelumab, durvalumab y cemiplimab. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 bloquea la interacción entre PD-1 y PD-L1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo a una dosis de 200 mg cada 3 semanas (Q3W) por infusión intravenosa (IV).

[0012] También se proporciona un método para tratar el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-PD-1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el HNSCC en el individuo ha progresado mientras estaba en una terapia previa con platino o después de la terapia con platino y donde el individuo es un ser humano.

[0013] También se proporciona un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar HNSCC en un individuo, donde el medicamento es para uso (tal como formulado para uso) en combinación con un

anticuerpo anti-PD1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el HNSCC en el individuo ha progresado mientras estaba en una terapia previa con platino o después de la terapia con platino y donde el individuo es un ser humano.

[0014] También se proporciona una composición (como una composición farmacéutica) que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en combinación con un anticuerpo anti-PD-1 para tratar HNSCC en un individuo (por ejemplo, para su uso en un método para tratar HNSCC en un individuo), donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el HNSCC en el individuo ha progresado mientras estaba en una terapia previa con platino o después de la terapia con platino y donde el individuo es un ser humano.

[0015] En algunas realizaciones, el individuo con HNSCC recibió terapia previa con un inhibidor del punto de control inmunitario (por ejemplo, un inhibidor del punto de control inmunitario descrito en este documento). En algunas realizaciones, dicho individuo se considera/se denomina «tratado con inhibidor de punto de control». En algunas realizaciones, el individuo con HNSCC no ha recibido terapia previa con un inhibidor del punto de control inmunitario. En algunas realizaciones, dicho individuo se considera/se denomina «sin tratamiento con inhibidor de punto de control». En algunas realizaciones, la terapia previa con platino comprendía uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en: cisplatino, carboplatino y oxaliplatino. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 bloquea la interacción entre PD-1 y PD-L1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es

pembrolizumab. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra (se formula para administración) al individuo a una dosis de 200 mg cada 3 semanas (Q3W) por infusión intravenosa (IV).

[0016] Se proporciona un método para tratar el cáncer gástrico/de la unión gastroesofágica (GEJ) positivo para HER2 en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-HER2, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el cáncer gástrico/GEJ en el individuo ha progresado después de un tratamiento previo con terapia basada en fluoropirimidina y/o un tratamiento previo con un anticuerpo anti-HER2 y donde el individuo es un ser humano.

[0017] También se proporciona un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer gástrico/de la unión gastroesofágica (GEJ) positivo para HER2 en un individuo, donde el medicamento es para su uso (está formulado para usarse) en combinación con un anticuerpo anti-HER2, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el cáncer gástrico/GEJ en el individuo ha progresado después del tratamiento previo con una terapia basada en fluoropirimidina y/o un tratamiento previo con un anticuerpo anti-HER2 y donde el individuo es un ser humano.

[0018] También se proporciona una composición (como una composición farmacéutica) que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en combinación con un anticuerpo anti-HER2 para tratar cáncer gástrico/de la unión gastroesofágica (GEJ) positivo para HER2 en un individuo (por ejemplo, para su uso en un método para tratar cáncer gástrico/de la unión gastroesofágica (GEJ) positivo para HER2 en un individuo), donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el cáncer gástrico/GEJ en el individuo ha progresado después de un tratamiento previo con terapia basada en fluoropirimidina y/o un tratamiento previo con un anticuerpo anti-HER2 y donde el individuo es un ser humano.

[0019] En algunas realizaciones, el tratamiento previo con la terapia basada en fluoropirimidina o el tratamiento previo con el anticuerpo anti-HER2 comprendía uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en: trastuzumab, pertuzumab, 5-fluorouracilo, capecitabina, margetuximab y FOLFOX. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-HER2 es trastuzumab. En algunas realizaciones, el trastuzumab se administra (tal como se formula para la administración) al individuo a una dosis inicial de 8 mg/kg y a una dosis de 6 mg/kg para cada dosis posterior y donde el trastuzumab se administra al individuo por infusión IV cada 3 semanas (Q3W).

[0020] Se proporciona un método para tratar el linfoma no Hodgkin agresivo (NHL) en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-CD20, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A,

delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el NHL agresivo en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de NHL agresivo y no hay terapia curativa disponible y donde el individuo es un ser humano.

[0021] También se proporciona un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar linfoma no Hodgkin (NHL) agresivo, donde el medicamento es para su uso (está formulado para usarse) en combinación con un anticuerpo anti-CD20, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el NHL agresivo en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de NHL agresivo y no hay terapia curativa disponible y donde el individuo es un ser humano.

[0022] También se proporciona una composición (como una composición farmacéutica) que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en combinación con un anticuerpo anti-CD20 para tratar linfoma no Hodgkin (NHL) agresivo en un individuo (por ejemplo, para su uso en un método para tratar NHL agresivo), donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el NHL agresivo en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de NHL agresivo y no hay terapia curativa disponible y donde el individuo es un ser humano.

[0023] En algunas realizaciones, el NHL agresivo es linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), por ejemplo, DLBCL *de novo* o DLBCL transformado. En algunas realizaciones, el tratamiento previo

para el NHL agresivo comprendía rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, gemcitabina, lenalidomida, prednisona, prednisolona, etopósido, procarbazona, epirubicina, bendamustina, cisplatino, oxaliplatino, citarabina, ifosfamida, carboplatino, dexametasona, mesna, carmustina, melfalán, solumedrol, metil-glioxal-bis(guanilhidrazona), tiotepa, metotrexato, ibrutinib, obinituzumab, tisagenlecleucel, axicabtageno, brentuximab vedotina y combinaciones de estos. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En algunas realizaciones, el rituximab se administra (tal como se formula para administración) al individuo a una dosis de 375 mg/m² por infusión IV, donde el rituximab se administra (tal como se formula para administración) al individuo una vez por semana durante cuatro semanas y una vez al mes a partir de entonces.

10 **[0024]** Se proporciona un método para tratar el linfoma indolente en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRPα D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-CD20, donde la variante del dominio SIRPα D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones
15 L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y
20 N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el linfoma indolente en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de linfoma indolente y donde el individuo es un ser humano.

[0025] También se proporciona un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRPα D1 y una variante del dominio Fc para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar linfoma
25 indolente, donde el medicamento es para su uso (está formulado para usarse) en combinación con un anticuerpo anti-CD20, donde la variante del dominio SIRPα D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que
30 comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el

linfoma indolente en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de linfoma indolente y donde el individuo es un ser humano.

[0026] También se proporciona una composición (como una composición farmacéutica) que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc para su uso en combinación con un anticuerpo anti-CD20 para tratar linfoma indolente en un individuo (por ejemplo, para su uso en un método para tratar linfoma indolente en un individuo), donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; donde el linfoma indolente en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de linfoma indolente y donde el individuo es un ser humano.

[0027] En algunas realizaciones, el linfoma indolente es un linfoma no Hodgkin (NHL) indolente. En algunas realizaciones, el NHL indolente es un linfoma de zona marginal o un linfoma folicular. En algunas realizaciones, el tratamiento previo para el linfoma indolente comprendía rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, gemcitabina, lenalidomida, prednisona, prednisolona, etopósido, procarbazona, epirubicina, bendamustina, cisplatino, oxaliplatino, citarabina, ifosfamida, carboplatino, dexametasona, mesna, carmustina, melfalán, solumedrol, metil-glioxal-bis(guanilhidrazona), tiotepa, metotrexato, ibrutinib, obinituzumab, tisagenlecleucel, axicabtageno, brentuximab vedotina, fludarabina mitoxantrona, everolimus, bortezomib, navitoclax y combinaciones de estos. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En algunas realizaciones, el rituximab se administra (tal como se formula para administración) al individuo a una dosis de 375 mg/m² por infusión IV, donde el rituximab se administra (tal como se formula para administración) al individuo una vez por semana durante cuatro semanas y una vez al mes a partir de entonces. En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (tal como el medicamento fabricado usando tal polipéptido o una composición farmacéutica que comprende tal polipéptido) se administra (tal como se formula para la administración) al individuo a una dosis de 10 mg/kg o 15 mg/kg una vez por semana (QW), por ejemplo, por infusión IV.

[0028] En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos de la presente, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136. En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135. En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc forma un homodímero.

[0029] En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (tal como el medicamento fabricado usando tal polipéptido o una composición farmacéutica que comprende tal polipéptido) se administra (tal como se formula para la administración) al individuo a una dosis de 10 mg/kg una vez por semana (QW). En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (o el medicamento fabricado a partir de este o la composición farmacéutica que comprende tal polipéptido) se administra (tal como se formula para la administración) al individuo por infusión IV.

[0030] También se proporciona un kit que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (como el medicamento fabricado usando tal polipéptido o una composición farmacéutica que comprende tal polipéptido), para usar en combinación con pembrolizumab para tratar cáncer pulmonar de células no pequeñas (NSCLC) en un individuo (por ejemplo, un ser humano) que lo necesite, de acuerdo con un método descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, el NSCLC en el individuo ha progresado con una terapia previa con inhibidores de puntos

de control inmunológico (CPI) y / o tiene una puntuación de proporción de tumores PD-L1 (TPS) de menos del 50 %. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar pembrolizumab a una dosis de 200 mg cada 3 semanas (Q3W) por infusión IV. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg una vez a la semana, por ejemplo, por infusión IV.

[0031] También se proporciona un kit que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (como el medicamento fabricado usando tal polipéptido o una composición farmacéutica que comprende tal polipéptido), para usar en combinación con pembrolizumab para tratar carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) en un individuo (por ejemplo, un ser humano) que lo necesite, de acuerdo con un método descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y el HNSCC en el individuo ha progresado mientras estaba en una terapia previa con platino o después de la terapia con platino. En algunas realizaciones, el individuo ha recibido terapia previa con un inhibidor del punto de control inmunitario. En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido terapia previa con un inhibidor del punto de control inmunitario. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar pembrolizumab a una dosis de 200 mg cada 3 semanas (Q3W) por infusión IV. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg una vez a la semana, por ejemplo, por infusión IV.

[0032] También se proporciona en este documento un kit que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc en un portador farmacéuticamente aceptable para usar en combinación con trastuzumab para tratar el cáncer gástrico/de unión gastroesofágica (GEJ) positivo para HER2 en un individuo (p. ej., un individuo humano) que lo necesite, de acuerdo con un método descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que

comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y el cáncer gástrico/de GEJ positivo para HER2 en el individuo ha progresado después de una terapia previa basada en fluoropirimidina o un tratamiento previo con un anticuerpo anti-HER2. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar trastuzumab a una dosis inicial de 8 mg/kg y a una dosis de 6 mg/kg para cada dosis posterior y donde trastuzumab se administra al individuo por infusión IV cada 3 semanas (Q3W). En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg cada semana, p. ej., por infusión IV.

[0033] Se proporciona un kit que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc en un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en combinación con rituximab para el tratamiento del linfoma no Hodgkin (NHL) agresivo en un individuo (por ejemplo, un individuo humano) que lo necesita, de acuerdo con un método descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y el NHL agresivo en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo para NHL agresivo y no hay terapia curativa disponibles. En algunas realizaciones, el NHL agresivo es linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), por ejemplo, DLBCL *de novo* o DLBCL transformado. En algunas realizaciones, el NHL agresivo es un linfoma de células del manto. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar rituximab a una dosis de 375 mg/m² por infusión IV, donde rituximab se administra al individuo una vez por semana durante cuatro semanas y una vez por mes a partir de entonces. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg o 15 mg/kg cada semana, p. ej., por infusión IV.

[0034] Se proporciona también un kit que comprende un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc en un portador farmacéuticamente aceptable para su uso en combinación con rituximab para el tratamiento del linfoma indolente en un individuo (por ejemplo, un individuo humano) que lo necesita, de acuerdo con un método descrito en el presente documento. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y el linfoma indolente en el individuo es recidivante o refractario a un tratamiento previo para linfoma indolente. En algunas realizaciones, el linfoma indolente es un linfoma no Hodgkin (NHL) indolente. En algunas realizaciones, el NHL indolente es un linfoma de zona marginal o un linfoma folicular. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar rituximab a una dosis de 375 mg/m² por infusión IV, donde el rituximab se administra al individuo una vez por semana durante cuatro semanas y una vez al mes a partir de entonces. En algunas realizaciones, el kit comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg o 15 mg/kg cada semana, p. ej., por infusión IV.

[0035] En algunas realizaciones de cualquiera de los kits, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136. En algunas realizaciones, el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc forma un homodímero. En algunas realizaciones, que comprenden además instrucciones para administrar el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (o el medicamento fabricado a partir de este o la composición farmacéutica que comprende dicho

polipéptido) al individuo a una dosis de 10 mg/kg una vez por semana. (QW). En algunas realizaciones, el kit comprende instrucciones para administrar el polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc (o el medicamento fabricado a partir de este o la composición farmacéutica que comprende dicho polipéptido) al individuo mediante una infusión IV.

5 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0036] Las **Figuras 1A-1B** representan al Fármaco A como un monómero (**Figura 1A**) y como un homodímero (**Figura 1B**). La variante del dominio SIRP α D1 se une selectivamente a CD47 con afinidad de unión picomolar para bloquear sus interacciones con SIRP α . El peso molecular del Fármaco A es la mitad del tamaño de un anticuerpo típico, lo que permite administrar a los tumores el doble de la concentración molar. El dominio Fc se modifica para eliminar la unión a los receptores gamma Fc para minimizar la toxicidad. El Fármaco A presenta una farmacocinética similar a la de los anticuerpos.

[0037] La **Figura 2** proporciona un esquema del estudio clínico descrito en el Ejemplo 1.

[0038] Las **Figuras 3A-3C** muestran la actividad clínica del Fármaco A + trastuzumab en la cohorte de expansión de cáncer gástrico/de GEJ positivo para HER2. La **Figura 3A** proporciona el cambio en el tamaño del tumor, mostrado como porcentaje desde el valor inicial. ORR = tasa de respuesta global; DCR = tasa de control de la enfermedad; mPFS = mediana libre de progresión; Ci = intervalo de confianza. Los cambios en los tamaños de los tumores mostrados como porcentaje desde el valor inicial para cada paciente durante el transcurso del estudio se proporcionan en la **Figura 3B**. Para las **Figuras 3A-3B**: se incluyen pacientes que recibieron al menos una dosis de Fármaco A en la fase de expansión, tuvieron una evaluación inicial y al menos una evaluación de la enfermedad post-basal; la línea punteada superior indica el umbral para la progresión del objetivo; la línea punteada inferior indica el umbral para la respuesta general. La duración del tratamiento para cada paciente inscrito que recibió al menos una dosis del Fármaco A en la fase de expansión se proporciona en la **Figura 3C**. Los tumores se evaluaron de acuerdo con los Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 (EA Eisenhauer, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247.)

[0039] Las **Figuras 4A-4C** muestran la actividad clínica del Fármaco A + pembrolizumab en la cohorte de expansión de HNSCC. La **Figura 4A** proporciona el cambio en el tamaño del tumor, mostrado como porcentaje desde el valor inicial. ORR = tasa de respuesta global; DCR = tasa de control de la enfermedad; mPFS = mediana de supervivencia libre de progresión; CI = intervalo de confianza; CP = terapia de puntos de control inmunológico; CPS = puntuación positiva de la combinación para la tinción de PD-L1. Los cambios en los tamaños de los tumores mostrados como porcentaje desde el valor inicial para cada paciente durante el transcurso del estudio se proporcionan en la **Figura 4B**. Para

las **Figuras 4A-4B**: se incluyen pacientes que recibieron al menos una dosis de Fármaco A en la fase de expansión, tuvieron una evaluación inicial y al menos una evaluación de la enfermedad post-basal; la línea punteada superior indica el umbral para la progresión del objetivo; la línea punteada inferior indica el umbral para la respuesta general. La duración del tratamiento para cada paciente inscrito que recibió al menos una dosis del Fármaco A en la fase de expansión se proporciona en la **Figura 4C**. Los tumores se evaluaron de acuerdo con los Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 (EA Eisenhauer, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247.)

[0040] Las **Figuras 5A-5C** muestran la actividad clínica del Fármaco A + pembrolizumab en la cohorte de expansión de NSCLC. La **Figura 5A** proporciona el cambio en el tamaño del tumor, mostrado como porcentaje desde el valor inicial. DCR = tasa de control de la enfermedad; mPFS = mediana de supervivencia libre de progresión; CI = intervalo de confianza; TPS = puntuación de la proporción de tumores para la tinción de PD-L1. Los cambios en los tamaños de los tumores mostrados como porcentaje desde el valor inicial para cada paciente durante el transcurso del estudio se proporcionan en la **Figura 5B**. Para las **Figuras 5A-5B**: se incluyen pacientes que recibieron al menos una dosis de Fármaco A en la fase de expansión, tuvieron una evaluación inicial y al menos una evaluación de la enfermedad post-basal; la línea punteada superior indica el umbral para la progresión del objetivo; la línea punteada inferior indica el umbral para la respuesta parcial. La duración del tratamiento para cada paciente inscrito que recibió al menos una dosis del Fármaco A en la fase de expansión se proporciona en la **Figura 5C**. Los tumores se evaluaron de acuerdo con los Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 (EA Eisenhauer, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247.)

[0041] Las **Figuras 6A-6B** proporcionan parámetros farmacocinéticos y de ocupación de la diana CD47 del Fármaco A administrado en combinación con pembrolizumab o trastuzumab durante el transcurso del estudio. Como se muestra en la **Figura 6A**, la PK del Fármaco A (concentración sérica del Fármaco A) estaba dentro de los intervalos previstos del 95 % con base en un modelo de PK de población establecido. Se predijo que la vida media en estado estacionario del Fármaco A (10 mg/kg QW) sería de aproximadamente 16 días. Los puntos de tiempo de PK del Fármaco A incluyeron un muestreo intensivo en los ciclos 1 y 3, y la predosis y el final de la infusión solo en cada ciclo posterior. La **Figura 6B** muestra que la ocupación de la diana CD47 casi completa se mantiene en las células T CD4 + que expresan CD47 durante todo el intervalo de dosificación del Fármaco A cuando el Fármaco A se administró en combinación con pembrolizumab o trastuzumab. TO = ocupación objetivo.

[0042] Las **Figuras 7A-7C** muestran la respuesta antitumoral en pacientes tratados con el Fármaco A en combinación con pembrolizumab o trastuzumab. El porcentaje de células CD68 + (izquierda),

CD163 + (centro) y CD8 + (derecha) intratumorales positivas en biopsias emparejadas antes y después del tratamiento de 5 pacientes con NSCLC tratados con el Fármaco A + pembrolizumab, 6 pacientes con HNSCC tratados con el Fármaco A + pembrolizumab y 1 paciente con cáncer gástrico tratado con el Fármaco A + trastuzumab se proporcionan en la **Figura 7A**. Los macrófagos asociados a tumores y los linfocitos infiltrantes aumentaron después del tratamiento. Las imágenes de una biopsia de un paciente con NSCLC PD-L1(-) tratado con el Fármaco A + pembrolizumab que muestran tinción para CD68 y CD8 antes y durante el tratamiento (C3 = ciclo 3) se proporcionan en **Figura 7B**. Las imágenes de una biopsia de un paciente con HNSCC PD-L1(+) tratado con el Fármaco A + pembrolizumab que muestran tinción de CD68 y CD8 antes y durante el tratamiento (Ciclo 3) se proporcionan en la **Figura 7C**. **Figuras 7B-7C**: el gráfico de la derecha muestra los cambios en los tamaños de los tumores como porcentaje desde el valor inicial para cada paciente durante el transcurso del estudio; la línea punteada superior indica el umbral para la progresión del objetivo; la línea punteada inferior indica el umbral de respuesta parcial. Los marcadores CD68 y CD163 indican macrófagos; el marcador CD8 indica linfocitos T.

[0043] La **Figura 8** proporciona una descripción esquemática de un mecanismo propuesto para la actividad antitumoral del Fármaco A cuando se administra en combinación con anticuerpos terapéuticos anticancerosos como pembrolizumab, trastuzumab o rituximab.

[0044] La **Figura 9A** proporciona un esquema que muestra la actividad clínica del Fármaco A en combinación con pembrolizumab en pacientes con HNSCC $\geq 2L$ evaluables en respuesta (incluidos los pacientes sin tratamiento previo con inhibidores de puntos de control en pacientes experimentados con inhibidores de puntos de control). CPS = puntuación positiva combinada (es decir, el número de células teñidas positivas para PD-L1 (células tumorales, linfocitos y macrófagos) dividido por el número total de células tumorales viables, multiplicado por 100).

[0045] La **Figura 9B** proporciona un esquema que muestra la mejor respuesta global y la duración de la respuesta en pacientes con HNSCC $\geq 2L$ tratados con el Fármaco A y pembrolizumab.

[0046] La **Figura 10A** proporciona un esquema que muestra la actividad clínica del Fármaco A en combinación con pembrolizumab en pacientes con NSCLC $\geq 2L$ evaluables en respuesta. El paciente indicado con * demostró un cambio superior al 80 %. TPS = puntuación de proporción de tumores. La **Figura 10B** proporciona un esquema que muestra la mejor respuesta global y la duración de la respuesta en pacientes con NSCLC $\geq 2L$ tratados con el Fármaco A y pembrolizumab.

[0047] La **Figura 11A** proporciona un esquema que muestra la actividad clínica del Fármaco A en combinación con trastuzumab en pacientes con cáncer gástrico HER2⁺ $\geq 2L$ o pacientes con cáncer de GEJ HER2⁺ de respuesta evaluable. No se muestra un paciente con progresión clínica. La puntuación de HER2 refleja el nivel de expresión de HER2 de las células tumorales. La **Figura 11B** proporciona un esquema que muestra la mejor respuesta global y la duración de la respuesta en pacientes con

[0048] La **Figura 12** proporciona un esquema que muestra la actividad clínica del Fármaco A en combinación con rituximab en pacientes evaluables por respuesta con linfoma no Hodgkin recidivante/refractario. Los pacientes indicados con «^» demostraron un aumento de más del 80 % en la lesión medible en comparación con el valor inicial. Los pacientes indicados con «*» lograron una respuesta completa o una respuesta metabólica completa. Los pacientes indicados con «mPR» lograron una respuesta parcial metabólica. No se muestran dos pacientes (1 cada uno a 10 mg/kg y 15 mg/kg de Fármaco A) con progresión clínica. Un paciente (10 mg/kg de Fármaco A) con CR metabólica no está representado en las gráficas.

[0049] La **Figura 13A** proporciona un esquema que muestra la mejor respuesta global y duración de la respuesta en pacientes con linfoma no Hodgkin recidivante/refractario tratados con 10 mg/kg de Fármaco A y rituximab. La **Figura 13B** proporciona un esquema que muestra la mejor respuesta global y duración de la respuesta en pacientes con linfoma no Hodgkin recidivante/refractario tratados con 15 mg/kg de Fármaco A y rituximab. No se muestra un paciente con progresión clínica el Día 8 del estudio como mejor respuesta.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

[0050] El término «alrededor de» o «aproximadamente» significa dentro de un rango de error aceptable para el valor particular según lo determinado por un experto en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, es decir, las limitaciones del sistema de medida. Por ejemplo, «aproximadamente» puede significar dentro de 1 o más de 1 desviación estándar, según la práctica en la técnica. Alternativamente, «aproximadamente» puede significar un intervalo de hasta el 20 %, hasta el 10 %, hasta el 5 % o hasta el 1 % de un valor dado. Alternativamente, particularmente con respecto a los sistemas o procesos biológicos, el término puede significar dentro de un orden de magnitud, preferiblemente dentro de 5 veces y más preferiblemente dentro de 2 veces, de un valor. Cuando se describen valores particulares en la solicitud y las reivindicaciones, a menos que se indique

lo contrario, se debe asumir el significado del término «aproximadamente» dentro de un intervalo de error aceptable para el valor particular.

[0051] La terminología utilizada en la presente únicamente tiene el fin de describir casos particulares y no pretende ser taxativa. Tal como se usan en la presente, se pretende que las formas singulares «un», «una», «el» y «la» incluyan también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, en la medida en que los términos «que incluye», «incluye», «tener», «tiene», «con» o variantes de estos se utilizan en la descripción detallada o en las reivindicaciones, se pretende que dichos términos sean inclusivos de una manera similar al término «que comprende».

[0052] Como se usa en este documento, los términos «tratamiento», «tratar» y similares, se refieren a la administración de un agente, o la realización de un procedimiento, con el propósito de obtener un efecto. En algunas realizaciones, el efecto es profiláctico en términos de prevenir total o parcialmente una enfermedad o síntoma de esta. En algunas realizaciones, el efecto es terapéutico en términos de afectar a una cura parcial o completa de una enfermedad o síntomas de la enfermedad.

[0053] Como se usa en la presente, el término «anticuerpo» se refiere a anticuerpos intactos, fragmentos de anticuerpos, con la condición de que presenten la actividad biológica deseada (p. ej., unión al epítipo), anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y proteínas similares a anticuerpos.

[0054] Como se usa en este documento, el término «dominio variable de anticuerpo» se refiere a las porciones de las cadenas ligera y pesada de un anticuerpo que incluyen secuencias de aminoácidos de regiones determinantes de la complementariedad (CDR, por ejemplo, CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 y CDR H3) y regiones marco (FR).

[0055] Como se usa en este documento, el término «enlazador» se refiere a un enlace entre dos elementos, por ejemplo, dominios de proteínas. En algunas realizaciones, un enlazador puede ser un enlace covalente o un espaciador. El término «espaciador» se refiere a un resto (p. ej., un polímero de polietilenglicol (PEG)) o una secuencia de aminoácidos (p. ej., una secuencia de 1 a 200 aminoácidos) que se produce entre dos polipéptidos o dominios polipeptídicos para proporcionar espacio o flexibilidad (o espacio y flexibilidad) entre los dos polipéptidos o dominios polipeptídicos. En algunas realizaciones, un espaciador de aminoácidos es parte de la secuencia primaria de un polipéptido (por ejemplo, unido a los polipéptidos espaciados o dominios polipeptídicos a través de la estructura polipeptídica).

[0056] Como se usa en el presente documento, el término «cantidad eficaz» se refiere a una cantidad de un polipéptido o una composición farmacéutica que contiene un polipéptido descrito en el presente documento, por ejemplo, un polipéptido que tiene un dominio SIRP α D1 o una variante de este, que es suficiente y eficaz para lograr un tratamiento terapéutico deseado en el tratamiento de un paciente que tiene una enfermedad, como un cáncer, por ejemplo, un tumor sólido o un cáncer hematológico. En algunas realizaciones, una cantidad eficaz de polipéptido evitará efectos secundarios adversos.

[0057] Como se usa en este documento, el término «composición farmacéutica» se refiere a una formulación medicinal o farmacéutica que incluye un ingrediente activo así como excipientes o diluyentes (o tanto excipientes como diluyentes) y permite que el ingrediente activo se administre mediante métodos de administración adecuados. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas divulgadas en este documento incluyen componentes farmacéuticamente aceptables que son compatibles con el polipéptido. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica está en forma de tableta o cápsula para administración oral o en forma acuosa para administración intravenosa o subcutánea, por ejemplo mediante inyección.

[0058] Como se usa en este documento, los términos «sujeto», «individuo» y «paciente» se usan indistintamente para referirse a un vertebrado, por ejemplo, un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, murinos, simios, humanos, animales de granja, animales deportivos y mascotas. También se incluyen tejidos, células y su progenie de una entidad biológica obtenida in vivo o cultivada in vitro. Ninguno de los términos implica la supervisión de un profesional médico.

[0059] Como se usa en este documento, el término «afinidad» o «afinidad de unión» se refiere a la fuerza de la interacción de unión entre dos moléculas. Generalmente, la afinidad de unión se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre una molécula y su compañero de unión, como una variante del dominio SIRP α D1 y CD47. A menos que se indique lo contrario, afinidad de unión hace referencia a afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre miembros de un par de unión. La afinidad de unión entre dos moléculas se describe comúnmente mediante la constante de disociación (KD) o la constante de asociación (KA). Dos moléculas que tienen baja afinidad de unión entre sí generalmente se unen lentamente, tienden a disociarse fácilmente y exhiben una gran KD. Dos moléculas que tienen alta afinidad entre sí generalmente se unen fácilmente, tienden a permanecer unidas por más tiempo y exhiben una pequeña KD. En algunas realizaciones, la KD de dos moléculas que interactúan se determina usando métodos y técnicas conocidos, por ejemplo, resonancia de plasmones superficiales (SPR). KD se puede calcular como la relación koff/kon.

[0060] Como se usa en el presente documento, el término « K_D menor que» se refiere a un valor de K_D numéricamente más pequeño y una afinidad de unión creciente en relación con el valor de K_D mencionado. Como se usa en el presente documento, el término « K_D mayor que» se refiere a un valor de K_D numéricamente más grande y una afinidad de unión decreciente en relación con el valor de K_D mencionado.

[0061] Tal como se utiliza en la presente, «en combinación con» hace referencia a la administración de una modalidad de tratamiento además de otra modalidad de tratamiento. En ese sentido, «en combinación con» hace referencia a la administración de una modalidad de tratamiento antes, durante o después de la administración de la otra modalidad de tratamiento al individuo.

Visión general

[0062] En el presente documento se proporcionan métodos para tratar el cáncer en un individuo (p.ej., un individuo humano) que comprenden administrar al individuo (a) un polipéptido (p. ej., un polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc y (b) un anticuerpo terapéutico. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende cualquiera de las variantes del dominio SIRP α D1 descritas en el presente documento (a menos que se especifique lo contrario).

[0063] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-PD-1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el NSCLC en el individuo ha progresado con una terapia previa con inhibidores de puntos de control inmunológico (CPI) y / o tiene una puntuación de proporción de tumores PD-L1 (TPS) de menos del 50 %. En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido terapia de CPI previa. En algunas realizaciones, el individuo es negativo para PD-L1. En algunas realizaciones, el individuo es positivo para PD-L1.

[0064] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-PD-1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la

5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una

10 región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el HNSCC en el individuo ha progresado mientras estaba en una

15 terapia previa con platino o después de la terapia con platino y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el individuo recibió terapia previa con un inhibidor del punto de control inmunitario (CPI) (por ejemplo, tratamiento con un inhibidor del punto de control inmunitario descrito en este documento). En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido terapia de CPI previa. En algunas realizaciones, el individuo es negativo para PD-L1. En algunas realizaciones, el individuo es positivo para PD-L1.

[0065] En algunas realizaciones, un individuo es «negativo para PD-L1» si el individuo tiene un

20 cáncer que no expresa el biomarcador PD-L1 o expresa niveles muy bajos de PD-L1. En algunas realizaciones, el individuo es «negativo para PD-L1» o tiene un «cáncer negativo para PD-L1» si la expresión de PD-L1 (por ejemplo, expresión de proteína) no se detecta en células tumorales (TC) en una muestra del individuo, si la expresión de PD-L1 (p. ej., expresión de proteína) no se detecta en las células inmunes infiltrantes del tumor (IC) en una muestra del individuo, o si la expresión de PD-L1 (p.

25 ej., expresión de proteína) se detecta a niveles muy bajos en TC y/o IC en una muestra del individuo. En algunas realizaciones, el individuo es negativo para PD-L1 si, por ejemplo, 0 %, menos de aproximadamente 1 %, menos de aproximadamente 5 % o menos de aproximadamente 10 % de las células tumorales (TC) y o células inmunes infiltrantes de tumores (IC) en una muestra obtenida del individuo expresa PD-L1, según se determina usando un ensayo (por ejemplo, un ensayo descrito en

30 este documento) para determinar el estado de PD-L1 de un individuo. En algunas realizaciones, un individuo o tumor puede considerarse negativo para PD-L1 porque no tiene infiltrados de células T. Dichos ensayos son conocidos y utilizados habitualmente por profesionales médicos.

[0066] En algunas realizaciones, un individuo es «positivo para PD-L1» si el individuo tiene un cáncer que expresa (se ha demostrado que expresa, por ejemplo, en una prueba de diagnóstico) el biomarcador PD-L1. En algunas realizaciones, dicho individuo es «positivo para PD-L1» o tiene un cáncer que es un «cáncer positivo para PD-L1». En algunas realizaciones, el individuo es «positivo para PD-L1» o tiene un «cáncer positivo para PD-L1» si la expresión de PD-L1 (p. ej., expresión de proteína) se detecta en células tumorales (TC) en una muestra del individuo, o si se detecta expresión de PD-L1 (por ejemplo, expresión de proteína) en células inmunes infiltrantes del tumor (IC) en una muestra del individuo. En algunas realizaciones, las TC y/o IC del individuo expresan niveles bajos de biomarcador PD-L1. En algunas realizaciones, las TC y/o IC del individuo expresan niveles altos de biomarcador PD-L1. En algunas realizaciones, el individuo es «positivo para PD-L1» o tiene un cáncer que es un «cáncer positivo para PD-L1» si el biomarcador PD-L1 está presente (p. ej., se detecta) en más del 0 % de una muestra, en al menos 1 % de una muestra, en al menos 5 % de una muestra o en al menos 10 % de una muestra del individuo (por ejemplo, una muestra del individuo que contiene las TC y/o IC del individuo), como se determina usando un ensayo (por ejemplo, un ensayo descrito en este documento) para determinar el estado de PD-L1 de un individuo. Estos ensayos son conocidos y los profesionales médicos los utilizan habitualmente. En algunas realizaciones, un individuo es positivo para «PD-L1» o tiene un «cáncer positivo para PD-L1» si la puntuación de proporción tumoral (TPS) del individuo es ≥ 50 % (es decir, si ≥ 50 % de las células tumorales viables en una muestra del individuo expresan PD-L1, por ejemplo, a cualquier nivel).

[0067] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el cáncer gástrico/de la unión gastroesofágica (GEJ) positivo para HER2 en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-HER2, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el cáncer gástrico/GEJ en el individuo ha progresado después de un tratamiento previo con terapia basada en fluoropirimidina y/o un tratamiento previo con un anticuerpo anti-HER2 y donde el individuo es un ser humano.

[0068] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el linfoma no Hodgkin agresivo o «NHL» (p. ej., linfoma de células B grandes (DLBCL) *de novo* o transformado o linfoma de células del manto) en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-CD20, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el NHL agresivo en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de NHL agresivo y no hay terapia curativa disponible y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el NHL agresivo recidivante/refractario es DLBCL recidivante/refractario (por ejemplo, DLBCL *de novo* o transformado). En algunas realizaciones, el NHL agresivo recidivante/refractario es linfoma de células del manto (MCL) recidivante/refractario.

[0069] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el linfoma indolente en un individuo, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc, y (b) un anticuerpo anti-CD20, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85; donde la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat y donde el linfoma indolente en el individuo es recidivante y/o refractario a un tratamiento previo de linfoma indolente y donde el individuo es un ser humano. En algunas realizaciones, el linfoma indolente (tal como un linfoma indolente recidivante/refractario) es un linfoma no Hodgkin (NHL), por ejemplo, un NHL indolente recidivante/refractario. En algunas realizaciones, el NHL indolente (por ejemplo, NHL recidivante/refractario) es un linfoma folicular (por ejemplo, un linfoma folicular recidivante/refractario).

En algunas realizaciones, el NHL indolente (por ejemplo, NHL recidivante/refractario) es un linfoma de zona marginal (por ejemplo, un linfoma de zona marginal recidivante/refractario).

[0070] A continuación se describen más detalles con respecto a los métodos de tratamiento y polipéptidos que comprenden una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc. Véase también la Patente de Estados Unidos n.º 10,259,859, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

Dominio de Proteína reguladora de señales α (SIRP- α) D1 y variantes de esta

[0071] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describen polipéptidos que comprenden una variante de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) D1 que comprende un dominio SIRP α D1, o un fragmento de este, que comprenden una mutación de aminoácido en el residuo 80 con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje y al menos una mutación de aminoácido adicional relativa a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje en un residuo seleccionado del grupo que consiste en: residuo 6, residuo 27, residuo 31, residuo 47, residuo 53, residuo 54, residuo 56, residuo 66 y residuo 92.

[0072] También se describen en el presente documento, en algunas realizaciones, polipéptidos que comprenden variantes del dominio Fc, donde un dímero variante del dominio Fc comprende dos variantes del dominio Fc, donde cada variante del dominio Fc se selecciona independientemente de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de IgG2 humana que consiste en las mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A.

[0073] La proteína reguladora de señales α («SIRP- α » o «SIRP-alfa») es una glicoproteína transmembrana perteneciente a la superfamilia de Ig que se expresa ampliamente en la membrana de las células mieloides. SIRP α interactúa con CD47, una proteína ampliamente expresada en muchos tipos de células del cuerpo. La interacción de SIRP α con CD47 evita la absorción de las células «propias», que de otro modo pueden ser reconocidas por el sistema inmunológico. Se ha observado que una alta expresión de CD47 en células tumorales puede actuar, en la leucemia mieloide aguda y varios cánceres de tumores sólidos, como un factor pronóstico negativo para la supervivencia.

[0074] La SIRP α nativa comprende 3 dominios extracelulares de tipo inmunoglobulina (Ig) altamente homólogos: D1, D2 y D3. El dominio SIRP α D1 («dominio D1») se refiere al dominio extracelular distal de la membrana de SIRP α y media la unión de SIRP α a CD47. Como se usa en este documento, el término «polipéptido SIRP α » se refiere a cualquier polipéptido SIRP α o fragmento de este que sea capaz de unirse a CD47. Hay al menos diez variantes de SIRP α humana de tipo salvaje.

La Tabla 1 muestra las secuencias de aminoácidos de los dominios D1 de las diez variantes del dominio SIRP α D1 humano de tipo salvaje de origen natural (SEQ ID NO: 1-10). En algunas realizaciones, un polipéptido SIRP α comprende un dominio SIRP α D1. En algunas realizaciones, un polipéptido SIRP α comprende un dominio D1 de tipo salvaje, como los proporcionados en las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, un polipéptido SIRP α incluye un dominio D2 o D3 (o ambos dominios D2 y D3) (ver Tabla 3) de un SIRP α humano de tipo salvaje.

Tabla 1. Secuencias de dominios SIRP α D1 de tipo salvaje

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia de aminoácidos
1	Variante 1 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQ WFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNM DFSIRIGNITPADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
2	Variante 2 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQ WFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENM DFSISISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
3	Variante 3 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILLCTVTSLIPVGPIQ WFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENM DFSISISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
4	Variante 4 del dominio D1 de tipo salvaje	EEGLQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTATSLIPVGPIQ WFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNM DFSIRIGNITPADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
5	Variante 5 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDK FVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQ WFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNM DFSIRIGNITPADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS

6	Variante 6 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQ WFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNM DFPIRIGNITPADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
7	Variante 7 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQ WFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENM DFSISISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRGKPS
8	Variante 8 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQ WFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENM DFSISISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
9	Variante 9 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQ WFRGAGPGRELIYNQKEGHFPRVTTVSDLTKRNNM DFSIRISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
10	Variante 10 del dominio D1 de tipo salvaje	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQ WFRGAGPARELIYNQKEGHFPRVTTVSESTKRENM DFSISISNITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
11	Dominio pan-D1 de tipo salvaje	EEX ₁ LQVIQPDKX ₂ VX ₃ VAAGEX ₄ AX ₅ LX ₆ CTX ₇ TSLIPV GPIQWFRGAGPX ₈ RELIYNQKEGHFPRVTTVSX ₉ X ₁₀ TKRX ₁₁ NMDFX ₁₂ IX ₁₃ IX ₁₄ NITPADAGTY YCVKFRKGS X ₁₅ X ₁₆ DX ₁₇ EFKSGAGTELSVRX ₁₈ KPS
	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 11	X ₁ es E o G; X ₂ es S o F; X ₃ es L o S; X ₄ es T o S; X ₅ es T o I; X ₆ es R, H o L; X ₇ es A o V; X ₈ es G o A; X ₉ es D o E; X ₁₀ es L o S; X ₁₁ es N o E o D; X ₁₂ es S o P; X ₁₃ es R o S; X ₁₄ es G o S; X ₁₅ es P o está ausente; X ₁₆ es D o P; X ₁₇ es V o T; y X ₁₈ es A o G

[0075] Como se usa en este documento, el término «variante del dominio SIRPα D1» se refiere a un polipéptido que comprende un dominio SIRPα D1 o una porción de unión a CD47 de un polipéptido SIRPα que tiene una mayor afinidad por CD47 que SIRPα de tipo salvaje. Una variante del dominio SIRPα D1 comprende al menos una sustitución, delección o inserción de aminoácidos (o una combinación de estas) con respecto a una SIRPα de tipo salvaje.

[0076] En algunas realizaciones, las variantes del dominio SIRPα D1 descritas en el presente documento comprenden un dominio SIRPα D1 o una variante de este. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRPα D1 comprende una o más sustituciones, inserciones, adiciones o delecciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje mostrado en las SEQ ID NO: 1-10. La Tabla 2 enumera sustituciones de aminoácidos ejemplares en cada variante del dominio SIRPα D1 (SEQ ID NO: 13-22). En algunas realizaciones, el polipéptido del dominio SIRPα D1 o la variante del dominio SIRPα D1 comprende un fragmento del dominio D1. En algunas realizaciones, el fragmento de polipéptido SIRPα o el fragmento variante del dominio SIRPα D1 comprende una secuencia de aminoácidos de menos de 10 aminoácidos de longitud, aproximadamente 10 aminoácidos de longitud, aproximadamente 20 aminoácidos de longitud, aproximadamente 30 aminoácidos de longitud, aproximadamente 40 aminoácidos de longitud, aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, aproximadamente 60 aminoácidos de longitud, aproximadamente 70 aminoácidos de longitud, aproximadamente 80 aminoácidos de longitud, aproximadamente 90 aminoácidos de longitud, aproximadamente 100 aminoácidos de longitud o más de aproximadamente 100 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, los fragmentos del dominio SIRPα D1 conservan la capacidad de unirse a CD47.

[0077] En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación que comprende una variante del dominio SIRPα D1 se une con mayor afinidad de unión a CD47 que un dominio SIRPα D1 humano de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRPα D1 se une a CD47 humano con al menos 1 vez (p. ej., al menos 1,5 veces, 2 veces, 2,5 veces, 3 veces, 3,5 veces, 4 veces, 5 veces o más de 5 veces) de afinidad que la afinidad de un dominio D1 de origen natural. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRPα D1 se une a CD47 humano con al menos 1 vez (p. ej., al menos 10 veces, 100 veces, 1000 veces o más de 1000 veces) de afinidad que la afinidad de un dominio D1 de origen natural.

[0078] Como se usa en el presente documento, el término «afinidad optimizada» o «afinidad de unión optimizada» se refiere a una fuerza optimizada de la interacción de unión entre un polipéptido descrito en este documento, que incluye una variante del dominio SIRPα D1 y CD47. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polipéptido se une principalmente o con mayor afinidad a CD47 en células

cancerosas y no se une sustancialmente o se une con menor afinidad a CD47 en células no cancerosas. En algunas realizaciones, la afinidad de unión entre el polipéptido y CD47 se optimiza de manera que la interacción no causa toxicidad clínicamente relevante o disminuye la toxicidad en comparación con una variante que se une con máxima afinidad. En algunas realizaciones, con el fin de lograr una afinidad de unión optimizada entre un polipéptido proporcionado en este documento y CD47, el polipéptido que incluye una variante del dominio SIRP α D1 se desarrolla para que tenga una afinidad de unión a CD47 más baja que la que se puede lograr al máximo. En algunas realizaciones, las variantes del dominio SIRP α D1 descritas en este documento reaccionan de forma cruzada con CD47 de roedor, primate no humano (NHP) y humano.

[0079] Como se usa en el presente documento, el término «inmunogenicidad» se refiere a la propiedad de una proteína (por ejemplo, una proteína terapéutica) que provoca una respuesta inmune en el huésped como si fuera un antígeno extraño. La inmunogenicidad de una proteína se puede ensayar *in vitro* de diversas formas, como mediante ensayos de proliferación de células T *in vitro*.

[0080] Como se usa en este documento, el término «inmunogenicidad mínima» se refiere a la inmunogenicidad de una proteína (p. ej., una proteína terapéutica) que se ha modificado, p. ej., mediante sustituciones de aminoácidos, para que sea menor (p. ej., al menos 10 %, 25 %, 50 % o 100 % menor) que la inmunogenicidad antes de que se introduzcan las sustituciones de aminoácidos (por ejemplo, una proteína no modificada). En algunas realizaciones, una proteína (p. ej., una proteína terapéutica) se modifica para que tenga una inmunogenicidad mínima y provoca muy poca o ninguna respuesta inmune del huésped, incluso aunque sea un antígeno extraño.

[0081] En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 demuestra una inmunogenicidad mínima. En algunas realizaciones, un polipéptido SIRP α de la divulgación administrado a un sujeto tiene la misma secuencia de aminoácidos que la del polipéptido SIRP α en una muestra biológica del sujeto, excepto por los cambios de aminoácidos que aumentan la afinidad de la variante del dominio SIRP α D1. En algunas realizaciones, las variantes de polipéptido descritas en este documento reducen el riesgo de efectos secundarios en comparación con los anticuerpos anti-CD47 o SIRP α de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las variantes de polipéptido descritas en este documento reducen el riesgo de anemia en comparación con los anticuerpos anti-CD47 o SIRP α de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las variantes de polipéptido descritas en el presente documento no causan anemia aguda en estudios de roedores o primates no humanos (NHP).

[0082] La **Tabla 2** enumera las sustituciones de aminoácidos específicas en una variante del dominio SIRP α D1 con respecto a cada secuencia del dominio D1. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye una o más (p. ej., dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho,

nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más) de las sustituciones enumeradas en la **Tabla 2**. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye como máximo catorce sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye como máximo diez sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye como máximo siete sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 de la divulgación tiene al menos 90 % (por ejemplo, al menos 92 %, 95 %, 97 % o más de 97 %) de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de un dominio D1 de tipo salvaje. .

- 10 **[0083]** En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 es una variante quimérica del dominio SIRP α D1 que incluye una porción de dos o más dominios D1 de tipo salvaje o variantes de estos (por ejemplo, una porción de un dominio D1 de tipo salvaje o una variante de este y una porción de otro dominio D1 de tipo salvaje o una variante de este). En algunas realizaciones, una variante quimérica del dominio SIRP α D1 incluye al menos dos porciones (por ejemplo, tres, cuatro, cinco o más
- 15 porciones) de dominios D1 de tipo salvaje o variantes de estos, donde cada una de las porciones es de un dominio D1 de tipo salvaje diferente. En algunas realizaciones, una variante quimérica del dominio SIRP α D1 incluye además una o más sustituciones de aminoácidos enumeradas en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Sustituciones de aminoácidos en una variante del dominio SIRP α D1

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia de aminoácidos
13	v1 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPI QWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ R NNMDFSIRIGNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDDVEX ₁₄ KSGAGTELSVRKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 13	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V

14	v2 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ R ENMDFSISISNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDTEX ₁₄ K SGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 14	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
15	v3 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILLCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ R ENMDFSISISNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDTEX ₁₄ K SGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 15	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
16	v4 del dominio D1	EEGX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ R NNMDFSIRIGNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDDVEX ₁₄ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 16	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
17	v5 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKFVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ R NNMDFSIRIGNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDDVEX ₁₄ KSGAGTELSVRAKPS

-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 17	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
18	v6 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ R NNMDFPIRIGNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDDVEX ₁₄ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 18	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
19	v7 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ R ENMDFSISISNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDTEX ₁₄ K SGAGTELSVRGKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 19	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
20	v8 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ R ENMDFSISISNITPADAGTYYCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDTEX ₁₄ K SGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 20	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V

21	v9 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ R NNMDFSIRISNITPADAGTYXCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDDVEX ₁₄ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 21	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
22	v10 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPDKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TS LX ₅ PVGPI QWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ R ENMDFSISISNITPADAGTYXCX ₁₂ KX ₁₃ RKGSPDTEX ₁₄ K SGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 22	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =V, I; X ₁₃ =F, L, V; X ₁₄ =F, V
23	Dominio Pan D1	EEX ₁ X ₂ QX ₃ IQPDKX ₄ VX ₅ VAAGEX ₆ X ₇ X ₈ LX ₉ CTX ₁₀ TS LX ₁₁ PVGPIQWFRGAGPX ₁₂ RX ₁₃ LIYNQX ₁₄ X ₁₅ GX ₁₆ FPRVTTV SX ₁₇ X ₁₈ TX ₁₉ RX ₂₀ NMDFX ₂₁ IX ₂₂ IX ₂₃ NITPADAGTYXCX ₂₄ K X ₂₅ RKGSPDX ₂₆ X ₂₇ EX ₂₈ KSGAGTELSVRX ₂₉ KPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 23	X ₁ =E, G; X ₂ =L, I, V; X ₃ =V, L, I; X ₄ =S, F; X ₅ =L, S; X ₆ =S, T; X ₇ =A, V; X ₈ =I, T; X ₉ =H, R; X ₁₀ =A, V, I, L; X ₁₁ =I, T, S, F; X ₁₂ =A, G; X ₁₃ =E, V, L; X ₁₄ =K, R; X ₁₅ =E, Q; X ₁₆ =H, P, R; X ₁₇ =D, E; X ₁₈ =S, L, T, G; X ₁₉ =K, R; X ₂₀ =E, D; X ₂₁ =S, P; X ₂₂ =S, R; X ₂₃ =S, G; X ₂₄ =V, I; X ₂₅ =F, L, V; X ₂₆ =D o ausente; X ₂₇ =T, V; X ₂₈ =F, V; y X ₂₉ =A, G

[0084] En algunas realizaciones, un polipéptido comprende una variante del dominio SIRPα D1 que comprende una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDDVEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID

NO: 13), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V, o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es L, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es V o I; X_{13} es F, L, o V; y X_{14} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 1.

- 5 **[0085]** En algunas realizaciones, un polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende una secuencia de:

EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDDVEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID
NO: 16), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V,
10 o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es L, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es V o I; X_{13} es F, L, o
V; y X_{14} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto
a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 4.

[0086] En algunas realizaciones, un polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende una secuencia de:

- 15 EEEX₁QX₂IQPDKFVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDDVEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID
NO: 17), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V,
o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es L, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es V o I; X_{13} es F, L o
V; y X_{14} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto
20 a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 5.

En algunas realizaciones, un polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende una secuencia de:

- EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFPIRIGNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDDVEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID
25 NO: 18), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V,
o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es L, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es V o I; X_{13} es F, L, o
V; y X_{14} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto
a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 6.

- [0087]** En algunas realizaciones, un polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que
30 comprende una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDDVEX₁₄KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ ID
NO: 21), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S o F; X₆ es E, V o
L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es V o I; X₁₃ es F, L, o
V; y X₁₄ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto
a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 9.

[0088] En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, un polipéptido comprende
una variante del dominio SIRPα D1 que comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 13,
16-18 y 21, donde X₁ es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₂ es
V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es A o V. En cualquiera de
las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es A, I o L. En cualquiera de las realizaciones
mencionadas anteriormente, X₅ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas
anteriormente, X₆ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es K
o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es E o Q. En cualquiera de las
realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones
mencionadas anteriormente, X₁₀ es L, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas
anteriormente, X₁₁ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₂ es V
o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es F, L, V. En cualquiera de las
realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₄ es F o V. En algunas realizaciones, el polipéptido de
este aspecto de la divulgación incluye no más de seis sustituciones de aminoácidos con respecto al
dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-
6 y 9.

[0089] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos
10 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de cualquiera
de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad
de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la
secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, el polipéptido se une
a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje
que comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, un
polipéptido de variante del dominio SIRPα D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor
de 1 x 10⁻⁸ M, menor de 5 x 10⁻⁹ M, menor de 1 x 10⁻⁹ M, menor de 5 x 10⁻¹⁰ M, menor de 1 x 10⁻¹⁰ M o
menor de 1 x 10⁻¹¹ M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRPα D1 o un
fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre

aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

- 5 **[0090]** En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que comprende una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDTEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO:
14), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L;
10 X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es V o I; X₁₃ es F, L, o V;
y X₁₄ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a
un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 2

[0091] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que comprende una secuencia de:

- 15 EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILLCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDTEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO:
15), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L;
X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es V o I; X₁₃ es F, L, o V;
y X₁₄ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a
20 un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 3.

[0092] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que comprende una secuencia de:

- EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDTEX₁₄KSGAGTELSVRGKPS (SEQ ID NO:
25 19), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L;
X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es V o I; X₁₃ es F, L, o V;
y X₁₄ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a
un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 7.

- [0093]** En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que
30 comprende una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
 EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDTEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO:
 22), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L;
 X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es V o I; X₁₃ es F, L, o V;
 5 y X₁₄ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a
 un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 10.

[0094] En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la
 divulgación, el polipéptido la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 14, 15, 19 y 22, donde X₁ es
 L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₂ es V, L o I. En cualquiera
 10 de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es A o V. En cualquiera de las realizaciones
 mencionadas anteriormente, X₄ es V, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas
 anteriormente, X₅ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es
 E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es K o R. En cualquiera de
 las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones
 15 mencionadas anteriormente, X₉ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas
 anteriormente, X₁₀ es S, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₁ es
 K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₂ es V o I. En cualquiera de
 las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es F, L o V. En cualquiera de las realizaciones
 mencionadas anteriormente, X₁₄ es F o V. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de
 20 la divulgación incluye no más de seis sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1
 de tipo salvaje que comprende la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10.

[0095] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos
 10 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las
 SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de
 25 unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de
 cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con
 una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene
 la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, un polipéptido de
 variante del dominio SIRPα D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1 x 10⁻⁸
 30 M, menor de 5 x 10⁻⁹ M, menor de 1 x 10⁻⁹ M, menor de 5 x 10⁻¹⁰ M, menor de 1 x 10⁻¹⁰ M o menor de 1
 x 10⁻¹¹ M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRPα D1 o un fragmento
 de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente
 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre

aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0096] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que comprende una secuencia de:

5 EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISNITPADAGTYXCX₁₂KX₁₃RKGSPDTEX₁₄KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID
NO: 20), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V,
o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es V o I; X₁₃ es F, L,
o V; y X₁₄ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto
10 a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

[0097] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 20, donde
X₁ es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la
divulgación, X₂ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es A o V.
En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es A, I o L. En cualquiera de las
15 realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones
mencionadas anteriormente, X₆ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas
anteriormente, X₇ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es E o
Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es H, P o R. En cualquiera de las
realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es S, T o G. En cualquiera de las realizaciones
20 mencionadas anteriormente, X₁₁ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas
anteriormente, X₁₂ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es F, L
o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₄ es F o V. En algunas
realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de seis sustituciones de
aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO:
25 8.

[0098] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos
10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8. En
algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces
mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8. En algunas
30 realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que
el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones,
un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor
de 1 x 10⁻⁸ M, menor de 5 x 10⁻⁹ M, menor de 1 x 10⁻⁹ M, menor de 5 x 10⁻¹⁰ M, menor de 1 x 10⁻¹⁰ M o

menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0099] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que comprende una secuencia de:

EEX₁X₂QX₃IQPDKX₄VX₅VAAGEX₆X₇X₈LX₉CTX₁₀TSLX₁₁PVGPIQWFRGAGPX₁₂RX₁₃LIYNQX₁₄X₁₅GX₁₆FPRVTTVSX₁₇X₁₈TX₁₉RX₂₀NMDFX₂₁IX₂₂IX₂₃NITPADAGTYCYCX₂₄KX₂₅RKGSPDX₂₆X₂₇EX₂₈KSGAGTE LSVRX₂₉KPS (SEQ ID NO: 23), donde X₁ es E o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o I; X₄ es S o F; X₅ es L o S; X₆ es S o T; X₇ es A o V; X₈ es I o T; X₉ es H o R; X₁₀ es A, V, I, o L; X₁₁ es I, T, S, o F; X₁₂ es A o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K o R; X₁₅ es E o Q; X₁₆ es H, P, o R; X₁₇ es D o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K o R; X₂₀ es E o D; X₂₁ es S o P; X₂₂ es S o R; X₂₃ es S o G; X₂₄ es V o I; X₂₅ es F, L, V; X₂₆ es D o está ausente; X₂₇ es T o V; X₂₈ es F o V; y X₂₉ es A o G; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10.

[0100] En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es L o S. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es S o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es A o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es I o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es H o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es A, V, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₁ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₂ es A o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₄ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₅ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₆ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₇ es D o E. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₈ es S, L, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₉ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₂₀ es E o D. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₂₁ es S

o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{22} es S o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{23} es S o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{24} es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{25} es F, L, V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{26} es D o está ausente. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{27} es T o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{28} es F o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{29} es A o G. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de seis sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10.

10 **[0101]** En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

25 **[0102]** En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación que incluye una variante del dominio SIRP α D1 comprende además un dominio D2 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 24, un dominio D3 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 25 o un dominio D2 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 24 y un dominio D3 que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 25 de un SIRP α humano de tipo salvaje como se muestra en la **Tabla 3**. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende además un fragmento o variante de un dominio D2 o un fragmento o variante de un dominio D3. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende además un fragmento o variante de un dominio D2 o un fragmento o variante de un dominio D3. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 se une a un dominio D2 o D3 por medio de un enlazador. En algunas

realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 se une a un dominio D2 o D3 por medio de un enlazador.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos de los dominios SIRP α D2 y D3

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia de aminoácidos
24	Dominio SIRP α D2	APVVS GPAARATPQHTVSFTCESHGFS PRDITLKWFKN GNELSD FQTNVDPVGESVSYSIHSTAKVVL TREDVHSQ VICEVAHVTLQGDPLRGTANLSETIR
25	Dominio SIRP α D3	VPPTLEV TQQPVRAENQVNVTCQVRKFYPQRLQLTWL ENGNVSR TETASTVTENKDGTYNWMSWLLVNVSAHR DDVKLTCQVEHDGQPAVSKSHDLKVS

- 5 **[0103]** En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación que incluye una variante del dominio SIRP α D1 se une a una variante del dominio Fc para mejorar las propiedades farmacocinéticas del polipéptido, por ejemplo, aumentar la semivida en suero. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 se une a una variante del dominio Fc que no puede dimerizar. En algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc sirven para aumentar la vida media en suero de los
- 10 polipéptidos descritos en este documento. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación que incluye una variante del dominio SIRP α D1 no incluye la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 26-36 mostradas en la **Tabla 4**.

Tabla 4.

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
26	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQR EGHFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKFRKGSPDTEVKS GAGTELSVRKPS
27	EEEVQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTLTSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQR QGHFPRVTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEFKS GAGTELSVRKPS
28	EEEVQIIQPDKSVSVAAGESVILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARLLIYNQR EGPFPRVTTVSETTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKLRKGSPDTEFKS GAGTELSVRKPS

29	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQR QGPFPRTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKLRKGSPDTEFKS GAGTELSVRAKPS
30	EEEIQVIQPDKSVSVAAGESVIIHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQR QGRFPRTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKVRKGSPDTEVKS GAGTELSVRAKPS
31	EEEVQIIQPDKSVSVAAGESIILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQR EGRFPRTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKLRKGSPDTEFKS GAGTELSVRAKPS
32	EEEVQLIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQ REGFPRTTVSEGTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEVK SGAGTELSVRAKPS
33	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQR QGPFPRTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYIKFRKGSPDDVEFK SGAGTELSVRAKPS
34	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARLLIYNQR QGPFPRTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYCYVKFRKGSPDTEFKS GAGTELSVRAKPS
35	EEEVQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQK QGPFPRTTVISETTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEFKSG AGTELSVRAKPS
36	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLTPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQR QGPFPRTTVSEGTRRENMDFSISISNITPADAGTYCYIKFRKGSPDTEVKS GAGTELSVRAKPS

[0104] En algunas realizaciones, los polipéptidos y las construcciones polipeptídicas descritos en el presente documento se utilizan *in vitro* para ensayos de unión, tales como ensayos inmunes. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los polipéptidos y las construcciones polipeptídicas descritos en el presente documento se utilizan en fase líquida o se unen a un portador en fase sólida. En algunas realizaciones, los polipéptidos utilizados para inmunoensayos se marcan de forma detectable de diversas formas.

[0105] En algunas realizaciones, los polipéptidos y las construcciones polipeptídicas descritos en el presente documento se unen a varios portadores y se usan para detectar la presencia de células que

expresan antígenos específicas. Los ejemplos de portadores incluyen vidrio, poliestireno, polipropileno, polietileno, dextrano, nailon, amilasas, celulosas naturales y modificadas, poliacrilamidas, agarosas y magnetita. La naturaleza del portador puede ser soluble o insoluble.

[0106] Se conocen varios marcadores y métodos de marcado diferentes. Los ejemplos de marcadores incluyen enzimas, radioisótopos, compuestos fluorescentes, metales coloidales, compuestos quimioluminiscentes y compuestos bioluminiscentes. Están disponibles varias técnicas para unir marcadores a polipéptidos descritos en el presente documento.

[0107] En algunas realizaciones, los polipéptidos se acoplan a haptenos de bajo peso molecular. A continuación, estos haptenos se detectan específicamente mediante una segunda reacción. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el hapteno biotina se usa con avidina o los haptenos dinitrofenol, piridoxal o fluoresceína se detectan con anticuerpos anti-hapteno específicos (por ejemplo, anticuerpos anti-dinitrofenol, anticuerpos anti-piridoxal y anticuerpos anti-fluoresceína, respectivamente).

Variantes del dominio SIRP α D1 con patrones de glicosilación alterados

[0108] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describen polipéptidos que comprenden una variante de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) D1 que tiene un dominio SIRP α D1, o un fragmento de este, que comprenden una mutación de aminoácido en el residuo 80 con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje y al menos una mutación de aminoácido adicional relativa a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje en un residuo seleccionado del grupo que consiste en: residuo 6, residuo 27, residuo 31, residuo 47, residuo 53, residuo 54, residuo 56, residuo 66 y residuo 92.

[0109] También se describen en el presente documento, en algunas realizaciones, polipéptidos que comprenden variantes del dominio Fc, donde un dímero variante del dominio Fc comprende dos variantes del dominio Fc, donde cada variante del dominio Fc se selecciona independientemente de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de IgG2 humana que consiste en las mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A.

[0110] En algunas realizaciones, un polipéptido en una composición descrita en el presente documento comprende una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una glicosilación mínima o reducida. El dominio D1 de cada una de las diez proteínas SIRP α humanas de tipo salvaje (SEQ ID NO: 1-10 en la Tabla 1) contiene un único sitio de glicosilación potencial unido a N en el aminoácido N80 en la secuencia N80ITP. La expresión de un dominio SIRP α D1 en células de ovario de hámster chino (CHO) da como resultado una banda principal de 16 kDa (no glicosilada) y una banda menor de

mayor peso molecular que fue eliminada por Endo Hf. Endo Hf es una fusión de proteína recombinante de endoglicosidasa H y proteína de unión a maltosa. Endo Hf se escinde dentro del núcleo de quitobiosa de manosa alta y algunos oligosacáridos híbridos de glicoproteínas ligadas a N. Esto implica que una prolina en la posición del aminoácido 83 puede reducir la eficacia de la glicosilación, lo que da lugar a una proteína con diferentes grados de glicosilación y, por tanto, heterogeneidad. Para el desarrollo de fármacos, la heterogeneidad puede dar lugar a desafíos en el desarrollo de procesos. Por lo tanto, para investigar la posibilidad de generar formas homogéneas, no glicosiladas de variantes del dominio SIRP α D1, en algunas realizaciones, el aminoácido N80 de una variante SIRP α D1 se muta a Ala. En algunas realizaciones, para preparar una variante del dominio SIRP α D1 no glicosilado, el aminoácido N80 en una variante del dominio SIRP α D1 se reemplaza por cualquier aminoácido, inclusive cualquier aminoácido natural y no natural, por ejemplo, N80A y N80Q. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 comprende una mutación N80A y al menos 1 mutación adicional (por ejemplo, al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mutaciones adicionales o más). En algunas realizaciones, la mutación adicional está en el sitio de unión a CD47. En algunas realizaciones, la mutación adicional está en el núcleo hidrófobo del dominio D1.

[0111] En algunas realizaciones, un polipéptido en una composición descrita en el presente documento incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene un aumento de la glicosilación con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje. Otra opción para aumentar la homogeneidad del producto final es mejorar la eficacia de la glicosilación en el aminoácido N80 y generar variantes del dominio SIRP α D1 con un aumento de la glicosilación en relación con un tipo salvaje. En algunas realizaciones, el aminoácido P83 en la secuencia NITP83 afecta el grado de glicosilación en el aminoácido N80. En algunas realizaciones, cambiar P83 a cualquier aminoácido aumenta la eficacia de la glicosilación en N80. En algunas realizaciones, el aminoácido P83 en una variante del dominio SIRP α D1 se reemplaza por cualquier aminoácido, incluidos los aminoácidos naturales y no naturales, por ejemplo, P83V, P83A, P83I y P83L. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación se expresa en una célula que está optimizada para no glicosilar proteínas que son expresadas por dicha célula, por ejemplo, mediante ingeniería genética de la línea celular (p. ej., levadura modificada genéticamente o huésped mamífero) o modificaciones de condiciones de cultivo celular tales como la adición de kifunensina o mediante el uso de un huésped naturalmente no glicosilante tal como un procariota (*E. coli*, *etc.*).

[0112] La **Tabla 5** enumera las sustituciones de aminoácidos específicas en una variante del dominio SIRP α D1 con respecto a cada secuencia de variante del dominio D1. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye una o más (p. ej., dos, tres, cuatro, cinco,

seis, siete, ocho, nueve, diez, once, doce, trece, catorce o más) de las sustituciones enumeradas en la **Tabla 5**. En algunas realizaciones, las variantes del dominio SIRP α D1 no están glicosiladas o están mínimamente glicosiladas. En algunas realizaciones, las variantes del dominio SIRP α D1 están completamente glicosiladas o casi completamente glicosiladas. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye como máximo catorce sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye como máximo diez sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 incluye como máximo siete sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio D1 de tipo salvaje. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 de la divulgación tiene al menos 90 % (por ejemplo, al menos 92 %, 95 %, 97 % o más de 97 %) de identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia de un dominio D1 de tipo salvaje. .

[0113] En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 es una variante quimérica del dominio SIRP α D1 que incluye una porción de dos o más dominios D1 de tipo salvaje o variantes de estos (por ejemplo, una porción de un dominio D1 de tipo salvaje o una variante de este y una porción de otro dominio D1 de tipo salvaje o una variante de este). En algunas realizaciones, una variante quimérica del dominio SIRP α D1 incluye al menos dos porciones (*por ejemplo*, tres, cuatro, cinco o más porciones) de dominios D1 de tipo salvaje o variantes de estos, en donde cada una de las porciones es de un dominio D1 de tipo salvaje diferente. En algunas realizaciones, una variante quimérica del dominio SIRP α D1 incluye además una o más sustituciones de aminoácidos enumeradas en la **Tabla 5**.

Tabla 5. Sustituciones de aminoácidos en una variante del dominio SIRP α D1

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia de aminoácidos
37	v1 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVG PIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ T X ₁₁ RNNMDFSIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYXCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSP DDVEX ₁₆ KSGAGTELSVRKPS

-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 37	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
38	v2 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TS LX ₅ PVGP IQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDT EX ₁₆ KSGAGTELSVRKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 38	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
39	v3 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVSVAAGESX ₃ ILLCTX ₄ TS LX ₅ PVGP IQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDT EX ₁₆ KSGAGTELSVRKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 39	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
40	v4 del dominio D1	EEGX ₁ QX ₂ IQPKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TS LX ₅ PVGP IQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ 1RNNMDFSIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPD DVEX ₁₆ KSGAGTELSVRKPS

-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 40	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
41	v5 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKDFVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGP IQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TX ₁₁ RNNMDFSIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPD DVEX ₁₆ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 41	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
42	v6 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVG PIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ T X ₁₁ RNNMDFPIRIGX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSP DDVEX ₁₆ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 42	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
43	v7 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PVGP IQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYCYX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDT EX ₁₆ KSGAGTELSVRGKPS

-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 43	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
44	v8 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVG PIQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPD TEX ₁₆ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 44	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
45	v9 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVLVAAGETX ₃ TLRCTX ₄ TSLX ₅ PVG PIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ T X ₁₁ RNNMDFSIRISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSP DDVEX ₁₆ KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 45	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =A, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =L, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
46	v10 del dominio D1	EEEX ₁ QX ₂ IQPKSVSVAAGESX ₃ ILHCTX ₄ TSLX ₅ PVGP IQWFRGAGPARX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSEX ₁₀ TX ₁₁ RENMDFSISISX ₁₂ ITX ₁₃ ADAGTYYCX ₁₄ KX ₁₅ RKGSPDT EX ₁₆ KSGAGTELSVRAKPS

-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 46	X ₁ =L, I, V; X ₂ =V, L, I; X ₃ =A, V; X ₄ =V, I, L; X ₅ =I, T, S, F; X ₆ =E, V, L; X ₇ =K, R; X ₈ =E, Q; X ₉ =H, P, R; X ₁₀ =S, T, G; X ₁₁ =K, R; X ₁₂ =N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₃ =P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, Y; X ₁₄ =V, I; X ₁₅ =F, L, V; X ₁₆ =F, V
47	Dominio Pan D1	EEX ₁ X ₂ QX ₃ IQPD ₄ KX ₅ VX ₆ VAAGEX ₇ X ₈ LX ₉ CTX ₁₀ TSLX ₁₁ PVGPIQWFRGAGPX ₁₂ RX ₁₃ LIYNQX ₁₄ X ₁₅ GX ₁₆ FPRVTTVSX ₁₇ X ₁₈ TX ₁₉ RX ₂₀ NMDFX ₂₁ IX ₂₂ IX ₂₃ X ₂₄ ITX ₂₅ ADAGTYXCX ₂₆ KX ₂₇ RKGSPDX ₂₈ X ₂₉ EX ₃₀ KSGAGTELSVRX ₃₁ KPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 47	X ₁ =E, G; X ₂ =L, I, V; X ₃ =V, L, I; X ₄ =S, F; X ₅ =L, S; X ₆ =S, T; X ₇ =A, V; X ₈ =I, T; X ₉ =H, R, L; X ₁₀ =A, V, I, L; X ₁₁ =I, T, S, F; X ₁₂ =A, G; X ₁₃ =E, V, L; X ₁₄ =K, R; X ₁₅ =E, Q; X ₁₆ =H, P, R; X ₁₇ =D, E; X ₁₈ =S, L, T, G; X ₁₉ =K, R; X ₂₀ =E, N; X ₂₁ =S, P; X ₂₂ =S, R; X ₂₃ =S, G; X ₂₄ =cualquier aminoácido; X ₂₅ =cualquier aminoácido; X ₂₆ =V, I; X ₂₇ =F, L, V; X ₂₈ =D o está ausente; X ₂₉ =T, V; X ₃₀ =F, V; y X ₃₁ =A, G
48	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPD ₂ KS ₃ VX ₄ VAAGEX ₅ AX ₆ LX ₇ CTX ₈ TSLX ₉ PVGPIQWFRGAGPX ₁₀ RX ₁₁ LIYNQX ₁₂ X ₁₃ GX ₁₄ FPRVTTVSX ₁₅ X ₁₆ TKRX ₁₇ NMDFSIX ₁₈ IX ₁₉ X ₂₀ ITPADAGTYYCX ₂₁ KFRKGX ₂₂ X ₂₃ DX ₂₄ EFGSGAGTELSVRKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 48	X ₁ =V, I; X ₂ =L, S; X ₃ =T, S; X ₄ =T, I; X ₅ =R, H; X ₆ =A, V, I; X ₇ =I, R, Y, K, F; X ₈ =G, A; X ₉ =E, V; X ₁₀ =K, R; X ₁₁ =E, D, Q; X ₁₂ =H, P; X ₁₃ =D, E; X ₁₄ =S, L, T; X ₁₅ =N, E; X ₁₆ =R, S; X ₁₇ =G, S; X ₁₈ =N, A; X ₁₉ =V, I; X ₂₀ =S, I, M; X ₂₁ =P o está ausente; X ₂₂ =D, P; y X ₂₃ =V, T
49	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPD ₂ KS ₃ VLVAAGETATLRCTX ₄ TSLX ₅ PVGPIQWFRGAGPGRX ₆ LIYNQX ₇ X ₈ GX ₉ FPRVTTVSDX ₁₀ TKRNNMDFSIRIGX ₁₁ ITPADAGTYYCX ₁₂ KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRKPS

-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 49	X ₁ =V, I, L; X ₂ =A, I, V, L; X ₃ =I, F, S, T; X ₄ =E, V, L; X ₅ =K, R; X ₆ =E, Q; X ₇ =H, P, R; X ₈ =L, T, S, G; X ₉ =A; and X ₁₀ =V, I
50	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPDKSVSVAAGESAILHCTX ₂ TS LX ₃ PVGPI QWFRGAGPARX ₄ LIYNQX ₅ X ₆ GX ₇ FPRVTTVSEX ₈ TKR ENMDFSISISX ₉ ITPADAGTYXCX ₁₀ KFRKGGSPDTEFKS GAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 50	X ₁ =V, I; X ₂ =V, I; X ₃ =I, F; X ₄ =E, V; X ₅ =K, R; X ₆ =E, Q; X ₇ =H, P; X ₈ =S, T; X ₉ =N, A; y X ₁₀ =V, I
51	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPDKSVLVAAGETATLRCTX ₂ TS LX ₃ PVGPI QWFRGAGPGRX ₄ LIYNQX ₅ EGX ₆ FPRVTTVSDX ₇ TKRN NMDFSIRIGX ₈ ITPADAGTYXCX ₉ KFRKGGSPDDVEFKS GAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 51	X ₁ =V, I; X ₂ =A, I; X ₃ =I, F; X ₄ =E, V; X ₅ =K, R; X ₆ =H, P; X ₇ =L, T; X ₈ =N, A; y X ₉ =V, I
52	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPDKSVLVAAGETATLRCTX ₂ TS LX ₃ PVGPI QWFRGAGPGRELIYNQX ₄ EGX ₅ FPRVTTVSDX ₆ TKRN NMDFSIRIGX ₇ ITPADAGTYXCVKFRKGGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 52	X ₁ =V, L, I; X ₂ =A, I, L; X ₃ =I, T, S, F; X ₄ =K, R; X ₅ =H, P, R; X ₆ =L, T, G; y X ₇ =N, A

212	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPDKSVSVAAGESAILHCTX ₂ TSLX ₃ PVGPI QWFRGAGPARELIYNQX ₄ EGX ₅ FPRVTTVSEX ₆ TKRE NMDFSISISX ₇ ITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 212	X ₁ =V, L, I; X ₂ =V, I, L; X ₃ =I, T, S, F; X ₄ =K, R; X ₅ =H, P, R; X ₆ =S, T, G; y X ₇ =N, A
218	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPDKSVLVAAGETATLRCTX ₂ TSLX ₃ PVGPI QWFRGAGPGRX ₄ LIYNQX ₅ X ₆ GX ₇ FPRVTTVSDX ₈ TKR NNMDFSIRIGX ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ ADAGTYCYX ₁₃ KFRKGSPDD VEFKSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 218	X ₁ =V, L, o I; X ₂ =A, V, L, o I; X ₃ =I, S, T, o F; X ₄ =E, L, o V; X ₅ =K o R; X ₆ =E o Q; X ₇ =H, R o P; X ₈ =S, G, L o T, X ₉ =cualquier aminoácido; X ₁₀ =cualquier aminoácido; X ₁₁ =cualquier aminoácido; X ₁₂ =cualquier aminoácido y X ₁₃ =V o I
219	Dominio Pan D1	EEELQX ₁ IQPDKSVLVAAGETATLRCTX ₂ TSLX ₃ PVGPI QWFRGAGPGRX ₄ LIYNQX ₅ X ₆ GX ₇ FPRVTTVSDX ₈ TKR NNMDFSIRIGX ₉ ITX ₁₀ ADAGTYCYX ₁₁ KFRKGSPDDVEF KSGAGTELSVRAKPS
-	Sustituciones de aminoácidos con respecto a SEQ ID NO: 219	X ₁ =V, L o I; X ₂ =A, V, L, o I; X ₃ =I, S, T o F; X ₄ =E, L, o V; X ₅ =K o R; X ₆ =E o Q; X ₇ =H, R o P; X ₈ =S, G, L, o T; X ₉ =N; X ₁₀ =cualquier aminoácido que no sea P ; y X ₁₁ =V o I

[0114] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ
ID NO: 37), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E,

V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID

5 NO: 1.

[0115] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que tiene una secuencia de:

EEGX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ
10 ID NO: 40), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID

15 NO: 4.

[0116] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKFVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ
20 ID NO: 41), donde X₁ es L, I o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que comprende la secuencia de

25 SEQ ID NO: 5.

[0117] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SDX₁₀TX₁₁RNNMDFPIRIGX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAPKPS (SEQ
30 ID NO: 42), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o

Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 6.

[0118] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPGRX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVSDX₁₀TX₁₁RNNMDFSIRISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄KX₁₅RKGSPDDVEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 45), y donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es A, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V, o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es L, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 9.

[0119] En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que tiene una secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 37, 40-42 y 45, donde X₁ es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₂ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es A o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es A, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es L, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₁ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₄ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₅ es F, L, V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₆ es F o V.

[0120] En algunas realizaciones, un polipéptido proporcionado en este documento incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, el polipéptido proporcionado en el presente documento incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con

respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9.

[0121] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 4-6 y 9. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0122] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID
NO: 38), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V,
o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G,
H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y;
X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución
de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID
NO: 2.

[0123] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que comprende una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILLCTX₄TSX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID
NO: 39), donde X₁ es L, I, o V; X₂ es V, L, o I; X₃ es A o V; X₄ es V, I, o L; X₅ es I, T, S, o F; X₆ es E, V,
o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G,

H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 3.

- 5 **[0124]** En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRGKPS (SEQ ID
NO: 43), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es V, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V,
10 o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es S, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es N, A, C, D, E, F, G,
H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y;
 X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución
de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID
NO: 7.

- 15 **[0125]** En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVSVAAGESX₃ILHCTX₄TSLX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTVS
EX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYCYCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVRKPS (SEQ ID
NO: 46), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es V, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V,
20 o L; X_7 es K o R; X_8 es E o Q; X_9 es H, P, o R; X_{10} es S, T, o G; X_{11} es K o R; X_{12} es N, A, C, D, E, F, G,
H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y;
 X_{14} es V o I; X_{15} es F, L, o V; y X_{16} es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución
de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID
NO: 10.

- 25 **[0126]** En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 38, 39, 43, y 46, donde X_1 es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_2 es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_3 es A o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_4 es V, I
30 o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_5 es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_6 es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas

anteriormente, X_8 es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_9 es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{10} es S, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{11} es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{12} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{13} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{14} es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{15} es F, L, o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{16} es F o V.

[0127] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que no tiene más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que no tiene más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10.

[0128] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2, 3, 7 y 10. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0129] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEEX₁QX₂IQPDKSVLVAAGETX₃TLRCTX₄TS LX₅PVGPIQWFRGAGPARX₆LIYNQX₇X₈GX₉FPRVTTV
SEX₁₀TX₁₁RENMDFSISISX₁₂ITX₁₃ADAGTYXCX₁₄KX₁₅RKGSPDTEX₁₆KSGAGTELSVR AKPS (SEQ ID NO: 44), donde X_1 es L, I, o V; X_2 es V, L, o I; X_3 es A o V; X_4 es A, I, o L; X_5 es I, T, S, o F; X_6 es E, V,

o L; X₇ es K o R; X₈ es E o Q; X₉ es H, P, o R; X₁₀ es S, T, o G; X₁₁ es K o R; X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y; X₁₄ es V o I; X₁₅ es F, L, o V; y X₁₆ es F o V; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

[0130] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO. 44, donde X₁ es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es A o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es A, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es S, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₁ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₂ es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₄ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₅ es F, L, o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₆ es F o V.

[0131] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que no tiene más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRPα D1 que no tiene más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8.

[0132] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia SEQ ID NO: 8. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRPα D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1 x 10⁻⁸ M, menor de 5 x 10⁻⁹ M, menor de 1 x 10⁻⁹ M, menor de 5 x 10⁻¹⁰ M, menor de 1 x 10⁻¹⁰ M o

menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0133] En otro aspecto, la divulgación presenta un polipéptido que incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEX₁X₂QX₃IQPDKX₄VX₅VAAGEX₆X₇X₈LX₉CTX₁₀TSLX₁₁PVGPIQWFRGAGPX₁₂RX₁₃LIYNQX₁₄X₁₅GX₁₆FPRVTTVSX₁₇X₁₈TX₁₉RX₂₀NMDFX₂₁IX₂₂IX₂₃X₂₄ITX₂₅ADAGTYCYCX₂₆KX₂₇RKGSPDX₂₈X₂₉EX₃₀KSGAGTELSVRX₃₁KPS (SEQ ID NO: 47), donde X₁ es E o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o I; X₄ es S o F; X₅ es L o S; X₆ es S o T; X₇ es A o V; X₈ es I o T; X₉ es H, R o L; X₁₀ es A, V, I, o L; X₁₁ es I, T, S, o F; X₁₂ es A o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K o R; X₁₅ es E o Q; X₁₆ es H, P, o R; X₁₇ es D o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K o R; X₂₀ es E o N; X₂₁ es S o P; X₂₂ es S o R; X₂₃ es S o G; X₂₄ es cualquier aminoácido; X₂₅ es cualquier aminoácido; X₂₆ es V o I; X₂₇ es F, L, V; X₂₈ es D o está ausente; X₂₉ es T o V; X₃₀ es F o V; y X₃₁ es A o G y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10.

[0134] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 47, donde X₁ es E o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es L, I o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es L o S. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es S o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es A o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es I o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es H o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es A, V, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₁ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₂ es A o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₃ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₄ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₅ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₆ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₇ es D o E. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₈ es S, L, T o G. En cualquiera de las realizaciones

mencionadas anteriormente, X_{19} es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{20} es E o N. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{21} es S o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{22} es S o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{23} es S o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{24} es N, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, P, Q, R, S, T, V, W, o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{25} es P, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, W, o Y. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{26} es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{27} es F, L, V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{28} es D o está ausente. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{29} es T o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{30} es F o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_{31} es A o G.

[0135] En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10.

[0136] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-10. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0137] En algunas realizaciones, un polipéptido incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

[0138] EEELQX₁IQPDKSVX₂VAAGEX₃AX₄LX₅CTX₆TS LX₇PVGPIQWFRGAGPX₈RX₉LIYNQX₁₀X₁₁GX₁₂FPRVTTVSX₁₃X₁₄TKRX₁₅NMDFSIX₁₆I X₁₇X₁₈ITPADAGTYCYX₁₉KFRKGX₂₀X₂₁X₂₂DX₂₃EFKSGAGTEL SVRAKPS (SEQ ID NO: 48), donde X₁ es V o I; X₂ es L o S; X₃ es T o S; X₄ es T o I; X₅ es R o H; X₆ es A, V, o I; X₇ es I, R, Y, K o F; X₈ es G o A; X₉ es E o V; X₁₀ es K o R; X₁₁ es E, D o Q; X₁₂ es H o P; X₁₃ es D o E; X₁₄ es S, L o T; X₁₅ es N o E; X₁₆ es R o S; X₁₇ es G o S; X₁₈ es N o A; X₁₉ es V o I; X₂₀ es S, I o M; X₂₁ es P o está ausente; X₂₂ es D o P; y X₂₃ es V o T, o un fragmento de estos.

[0139] En otro aspecto, la divulgación presenta un polipéptido que incluye una variante del dominio SIRPα D1 que tiene una secuencia de:

EEELQX₁IQPDKSVLVAAGETATLRCTX₂TS LX₃PVGPIQWFRGAGPGRX₄LIYNQX₅X₆GX₇FPRVTTVS DX₈TKRNNMDFSIRIGX₉ITPADAGTYCYX₁₀KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 49), donde X₁ es V, L, o I; X₂ es A, I, V, o L; X₃ es I, F, S, o T; X₄ es E, V, o L; X₅ es K o R; X₆ es E o Q; X₇ es H, P, o R; X₈ es L, T, S, o G; X₉ es A; y X₁₀ es V o I; donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1.

[0140] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 49, donde X₁ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es A, I, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es I, F, S o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es E, V o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es H, P o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es L, T, S o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es V o I.

[0141] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende un dominio SIRPα D1 que comprende al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) con SEQ ID NO: 49, donde cada uno de X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆, X₇, X₈, X₉ y X₁₀ no son un aminoácido de tipo salvaje.

[0142] En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1.

[0143] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0144] En otro aspecto, la divulgación presenta un polipéptido que incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEELQX₁IQPKSVSVAAGESAILHCTX₂TSLX₃PVGPIQWFRGAGPARX₄LIYNQX₅X₆GX₇FPRVTTVSE
X₈TKRENMDFSISISX₉ITPADAGTYXCX₁₀KFRKGSPDTEFKSGAGTELSVRKPS, (SEQ ID NO: 50),
donde X₁ es V o I; X₂ es V o I; X₃ es I o F; X₄ es E o V; X₅ es K o R; X₆ es E o Q; X₇ es H o P; X₈ es S
o T; X₉ es N o A; y X₁₀ V o I; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido
con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID
NO: 2.

[0145] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 50, donde X₁ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es I o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es E o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es E o Q. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es S o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es N o A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₁₀ es V o I.

[0146] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende un dominio SIRP α D1 que comprende al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91

%, 92 %, 93 %, 94 % , 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) con SEQ ID NO: 50, donde cada uno de $X_1, X_2, X_3, X_4, X_5, X_6, X_7, X_8, X_9$ y X_{10} no es un aminoácido de tipo salvaje.

[0147] En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2.

[0148] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0149] En otro aspecto, la divulgación presenta un polipéptido que incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEELQX₁IQPDKSVLVAAGETATLRCTX₂TSLX₃PVGPIQWFRGAGPGRX₄LIYNQX₅EGX₆FPRVTTVSDX₇TKRNNMDFSIRIGX₈ITPADAGTYXCX₉KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRKPS (SEQ ID NO: 221), donde X_1 es V o I; X_2 es A o I; X_3 es I o F; X_4 es E o V; X_5 es K o R; X_6 es H o P; X_7 es L o T; X_8 es N o A; y X_9 es V o I; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1.

[0150] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 51, donde X_1 es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_2 es A o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_3 es I o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_4 es E o V. En cualquiera de las

realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es L o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es N o A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₉ es V o I. En algunas realizaciones, X₄ no es V.

5 **[0151]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 51, donde X₈ es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₈ es A y X₁ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₈ es A y X₂ es A o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₃ es I o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₄ es E o V. En cualquiera de las realizaciones, X₄ no es V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₅ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₆ es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₇ es A o V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₉ es V o I.

15 **[0152]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 51, donde X₈ es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₈ es A y X₁ es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₈ es A y X₂ es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₃ es F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₄ es V. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₅ es R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₆ es P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₇ es T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₈ es A y X₉ es I.

25 **[0153]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende una variante del dominio SIRPα D1 que comprende al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) con SEQ ID NO: 51, donde cada uno de X₁, X₂, X₃, X₄, X₅, X₆, X₇, X₈, y X₉ no es un aminoácido de tipo salvaje.

30 **[0154]** En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación comprende no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación comprende no más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1.

[0155] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 100 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM, o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0156] En otro aspecto, la divulgación presenta un polipéptido que incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEELQX₁IQPKSVLVAAGETATLRCTX₂TSLX₃PVGPIQWFRGAGPGRELIYNQX₄EGX₅FPRVTTVSDX₆TKRNNMDFSIRIGX₇ITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 222), donde X₁ es V, L, o I; X₂ es A, I, o L; X₃ es I, T, S, o F; X₄ es K o R; X₅ es H o P; X₆ es L, T, o G; X₇ es N o A; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene una secuencia según SEQ ID NO: 1.

[0157] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 222, donde X₁ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es A, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es L, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es N o A.

[0158] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 222, donde X₁ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es A o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es I o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas

anteriormente, X_6 es L o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es N o A.

5 **[0159]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 222, donde X_7 es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_1 es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_2 es A o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_3 es I o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_4 es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_5 es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_6 es L o T.

10 **[0160]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 222, donde X_7 es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_1 es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_2 es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_3 es F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_4 es R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_5 es P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_6 es T.

20 **[0161]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende un dominio SIRP α D1 que comprende al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) con SEQ ID NO: 222, donde cada uno de X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , y X_7 no es un aminoácido de tipo salvaje.

25 **[0162]** En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1.

30 **[0163]** En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con al menos 100 veces mayor afinidad de unión que el dominio de SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 1000 veces mayor que el dominio de SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, los fragmentos incluyen polipéptidos de menos

de 10 aminoácidos de longitud, aproximadamente 10 aminoácidos de longitud, aproximadamente 20 aminoácidos de longitud, aproximadamente 30 aminoácidos de longitud, aproximadamente 40 aminoácidos de longitud, aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, aproximadamente 60 aminoácidos de longitud, aproximadamente 70 aminoácidos de longitud, aproximadamente 80 aminoácidos de longitud, aproximadamente 90 aminoácidos de longitud, aproximadamente 100 aminoácidos de longitud o más de aproximadamente 100 aminoácidos de longitud. Los fragmentos conservan la capacidad de unirse a CD47. Preferiblemente, los polipéptidos de variantes del dominio SIRP α D1 y sus fragmentos se unen a CD47 con una mayor afinidad que un polipéptido SIRP α se une a CD47. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0164] En otro aspecto, la divulgación presenta un polipéptido que incluye una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de:

EEELQX₁IQPKSVSVAAGESAILHCTX₂TS LX₃PVGPIQWFRGAGPARELIYNQX₄EGX₅FPRVTTVSEX
 6TKRENMDFSISISX₇ITPADAGTY YCVKFRKGSPDTEFKSGAGTELSVR AKPS (SEQ ID NO: 212),
 donde X₁ es V, L, o I; X₂ es V, I, o L; X₃ es I, T, S, o F; X₄ es K o R; X₅ es H, P, o R; X₆ es S, T, o G; X₇ es N o A; y donde la variante comprende al menos una sustitución de aminoácido con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2.

[0165] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 212, donde X₁ es V, L o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es V, I o L. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es I, T, S o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₄ es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₅ es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₆ es S, T o G. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₇ es N o A.

[0166] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 212, donde X₁ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₂ es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X₃ es I o F. En

cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_4 es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_5 es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_6 es S o T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es N o A.

5 **[0167]** En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 212, donde X_7 es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_1 es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_2 es V o I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_3 es I o F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_4 es K o R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_5 es H o P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_6 es S o T.

[0168] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 212, donde X_7 es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_1 es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X_7 es A y X_2 es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_3 es F. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_4 es R. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_5 es P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, X_7 es A y X_6 es T.

[0169] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende un dominio SIRP α D1 que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) con SEQ ID NO: 212, donde cada uno de X_1 , X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , y X_7 no es un aminoácido de tipo salvaje.

[0170] En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de diez sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polipéptido de este aspecto de la divulgación incluye no más de siete sustituciones de aminoácidos con respecto al dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2.

[0171] En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al menos 10 veces mayor que el dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de las SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con al menos 100 veces mayor afinidad de unión que el dominio de SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, el polipéptido se une a CD47 con una afinidad de unión al

menos 1000 veces mayor que el dominio de SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene la secuencia de cualquiera de SEQ ID NO: 2. En algunas realizaciones, los fragmentos incluyen polipéptidos de menos de 10 aminoácidos de longitud, aproximadamente 10 aminoácidos de longitud, aproximadamente 20 aminoácidos de longitud, aproximadamente 30 aminoácidos de longitud, aproximadamente 40 aminoácidos de longitud, aproximadamente 50 aminoácidos de longitud, aproximadamente 60 aminoácidos de longitud, aproximadamente 70 aminoácidos de longitud, aproximadamente 80 aminoácidos de longitud, aproximadamente 90 aminoácidos de longitud, aproximadamente 100 aminoácidos de longitud o más de aproximadamente 100 aminoácidos de longitud. Los fragmentos conservan la capacidad de unirse a CD47. Preferiblemente, los polipéptidos de variantes del dominio SIRP α D1 y sus fragmentos se unen a CD47 con una mayor afinidad que un polipéptido SIRP α se une a CD47. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D menor de 1×10^{-8} M, menor de 5×10^{-9} M, menor de 1×10^{-9} M, menor de 5×10^{-10} M, menor de 1×10^{-10} M o menor de 1×10^{-11} M. En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una K_D entre aproximadamente 500 nM y 100 nM, entre aproximadamente 100 nM y 50 nM, entre aproximadamente 50 nM y 10 nM, entre aproximadamente 10 nM y 5 nM, entre aproximadamente 5 nM y 1 nM, entre aproximadamente 1 nM y 500 pM, entre aproximadamente 500 pM y 100 pM, entre aproximadamente 100 pM y 50 pM o entre aproximadamente 50 pM y 10 pM.

[0172] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describe un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de acuerdo con: EEELQX₁IQPDKSVLVAAGETATLRCTX₂TSLX₃PVGPIQWFRGAGPGRX₄LIYNQX₅X₆GX₇FPRVTTVS DX₈TKRNNMDFSIRIGX₉X₁₀X₁₁X₁₂ADAGTYXCX₁₃KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 218), donde X₁ es V, L o I; X₂ es A, V, L o I; X₃ es I, S, T o F; X₄ es E, L o V; X₅ es K o R; X₆ es E o Q; X₇ es H, R o P; X₈ es S, G, L o T; X₉ es cualquier aminoácido; X₁₀ es cualquier aminoácido; X₁₁ es cualquier aminoácido; X₁₂ es cualquier aminoácido; y X₁₃ es V o I; y donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene una secuencia según SEQ ID NO: 1.

[0173] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de SEQ ID NO: 212, donde X₁, donde X₉ es A. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación, X₉ es N. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X₁₀ es I. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X₉ es N y X₁₀ es P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X₉ es N y X₁₁ es cualquier aminoácido distinto de S, T

o C. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X_{11} es T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X_{11} es un aminoácido distinto de T. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X_{12} es P. En cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente en este aspecto de la divulgación X_9 es N y X_{12} es cualquier aminoácido que no sea P.

[0174] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describe un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una secuencia de acuerdo con: EEELQX₁IQPDKSVLVAAGETATLRCTX₂TS LX₃PVGPIQWFRGAGPGRX₄LIYNQX₅X₆GX₇FPRVTTVS DX₈TKRNNMDFSIRIGX₉ITX₁₀ADAGTYXCX₁₁KFRKGSPDDVEFKSGAGTELSVR AKPS (SEQ ID NO: 219), donde X_1 es V, L, o I; X_2 es A, V, L, o I; X_3 es I, S, T, o F; X_4 es E, L, o V; X_5 es K o R; X_6 es E o Q; X_7 es H, R, o P; X_8 es S, G, L, o T; X_9 es N; X_{10} es cualquier aminoácido que no sea P; y X_{11} es V o I; y donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje que tiene una secuencia según SEQ ID NO: 1.

[0175] En otro aspecto de la divulgación, se describen aquí composiciones que incluyen un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48, o un fragmento de esta. En algunas realizaciones, el polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o un fragmento de este se une a CD47 con una mayor afinidad en comparación con la afinidad que un polipéptido SIRP α se une al CD47. En algunas realizaciones, el polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 se une a CD47 con una K_D menor de $1 \times 10^{-8}M$, o menos de $1 \times 10^{-9}M$, menos de $1 \times 10^{-10}M$ o menos de $1 \times 10^{-11}M$. En algunas realizaciones, los polipéptidos de variante del dominio SIRP α D1 mencionados anteriormente están unidos o fusionados a un segundo polipéptido. En algunas realizaciones, el segundo polipéptido incluye, sin limitación, un polipéptido Fc, una variante de Fc o un fragmento de los anteriores.

[0176] Sin limitar lo anterior, en algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 se selecciona de cualquiera de las SEQ ID NO: 53-87 y 213 mostradas en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Polipéptidos de variantes de SIRP α

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
53	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ GPFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYC IKFRKGSPDTEFKSGAG TELSVR AKPS

54	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQR QGPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSG AGTELSVRAKPS
55	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ GPFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAG TELSVRAKPS
56	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ GPFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAG TELSVRAKPS
57	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
58	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRQ GPFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAG TELSVRAKPS
59	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQKQG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
60	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQREG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
61	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ GHFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAG TELSVRAKPS
62	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ GPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCIKFRKGSPDTEFKSGAG TELSVRAKPS
63	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARVLIYNQRQ GPFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPS
64	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRE GPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPS

65	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRE GPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPS
66	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRE GPFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPS
67	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQRE GPFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGA GTELSVRAKPS
68	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
69	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
70	EEELQIIQPDKSVSVAAGESAILHCTITSLFPVGPIQWFRGAGPARELIYNQREG PFPRVTTVSETTKRENMDFSISISNITPADAGTYVCVKFRKGSPDTEFKSGAGT ELSVRAKPS
71	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR QGPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAKPS
72	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
73	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
74	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
75	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS

76	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR EGPFPRVTTVSDLTNRNNMDFSIRIGNITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAPKS
77	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCIKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAPKS
78	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCIKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAPKS
79	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR QGPFPVTTVSDLTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAPKS
80	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCIKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAPKS
81	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR EGPFPRVTTVSDLTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAPKS
82	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAPKS
83	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAPKS
84	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAPKS
85	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYVCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAPKS
86	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCIKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAPKS

87	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLIPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQKE GHFPRVTTVSDLTNRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
195	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTMTSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
196	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLKPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
197	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLRPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
198	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLYPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
199	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRD GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
200	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGIPDDVEFKSGA GTELSVRAKPS
201	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGMPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS
202	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDVEFKSGA GTELSVRAKPS
203	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSSEPDEVEFKS GAGTELSVRAKPS
204	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLRPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRD GPFPRVTTVSDTTNRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPS

205	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLRPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTY YCVKFRKGIPDDVEFKSGA GTELSVR AKPS
206	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLRPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRD GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTY YCVKFRKGIPDDVEFKSGA GTELSVR AKPS
207	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLYPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRD GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVR AKPS
208	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLYPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTY YCVKFRKGIPDDVEFKSGA GTELSVR AKPS
209	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLYPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRD GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTY YCVKFRKGIPDDVEFKSGA GTELSVR AKPS
210	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRD GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTY YCVKFRKGIPDDVEFKSGA GTELSVR AKPS
213	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR QGPFPRVTTVSDLT KRNNMDFSIRIGNITVADAGTY YCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVR AKPS

[0177] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) a cualquier variante proporcionada en la **Tabla 6**.

[0178] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende un dominio SIRP α D1 que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 (SEQ ID NO: 223)% o 100 % de identidad de secuencia) a las SEQ ID NO: 80, 81, o 85 en la **Tabla 6**.

10 **Variantes del dominio Fc y polipéptidos de fusión que las comprenden**

[0179] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describen polipéptidos que comprenden una variante de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) D1 que comprende un dominio SIRP α D1, o un fragmento de este, que tienen una mutación de aminoácido en el residuo 80 con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje y al menos una mutación de aminoácido adicional
 5 relativa a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje en un residuo seleccionado del grupo que consiste en: residuo 6, residuo 27, residuo 31, residuo 47, residuo 53, residuo 54, residuo 56, residuo 66 y residuo 92.

[0180] También se describen en el presente documento, en algunas realizaciones, dímeros de variante del dominio Fc, donde el dímero de variante del dominio Fc comprende dos variantes del
 10 dominio Fc, donde cada variante del dominio Fc se selecciona independientemente de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de IgG2 humana que consiste en las mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A.

[0181] Los anticuerpos que se dirigen a los antígenos de la superficie celular pueden desencadenar
 15 funciones inmunoestimuladoras y efectoras asociadas con la participación del receptor Fc (FcR) en las células inmunitarias. Hay varios receptores Fc que son específicos para clases particulares de anticuerpos, incluidos IgG (receptores gamma), IgE (receptores eta), IgA (receptores alfa) e IgM (receptores mu). La unión de la región Fc a los receptores Fc sobre las superficies celulares puede desencadenar una cantidad de respuestas biológicas que incluyen la fagocitosis de partículas
 20 recubiertas por anticuerpos (fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos o ADCP), depuración de complejos inmunes, lisis de células recubiertas por anticuerpos mediante linfocitos citolíticos (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo o ADCC), liberación de mediadores inflamatorios, transferencia de placenta y control de la producción de inmunoglobulina. Además, la unión del componente C1 de complemento a anticuerpos puede activar el sistema de complemento. La
 25 activación del complemento puede ser importante en la lisis de patógenos celulares. Sin embargo, la activación del complemento también puede estimular la respuesta inflamatoria y también pueden estar implicada en la hipersensibilidad autoinmunitaria u otros trastornos inmunológicos. Las regiones Fc variantes con capacidad reducida o ablacionada para unirse a ciertos receptores Fc son útiles para desarrollar anticuerpos terapéuticos y construcciones polipeptídicas de fusión Fc que actúan al dirigir,
 30 activar o neutralizar funciones de ligando sin dañar o destruir células o tejidos locales.

[0182] En algunas realizaciones, una construcción de polipéptido SIRP α D1 comprende una variante de dominio de SIRP α D1 de origen no natural unida a una variante de dominio Fc que forma un dominio Fc que tiene una función efectora ablacionada o reducida.

[0183] En algunas realizaciones, una variante de dominio Fc se refiere a una cadena polipeptídica que incluye un segundo y tercer dominio constante de anticuerpo (por ejemplo, CH2 y CH3). En algunas realizaciones, una variante de dominio Fc también incluye un dominio bisagra. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es de cualquier isotipo de anticuerpo de inmunoglobulina, inclusive IgG, IgE, IgM, IgA e IgD. Además, en algunas realizaciones, una variante del dominio Fc es de cualquier subtipo de IgG (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG2a, IgG2b, IgG2c, IgG3 e IgG4). En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc comprende hasta diez modificaciones de aminoácidos (p. ej., inserciones, deleciones y/o sustituciones) con respecto a una secuencia de monómero del dominio Fc de tipo salvaje (p. ej., 1-10, 1-8, 1-6, 1-4 sustituciones, adiciones o inserciones, deleciones de aminoácidos o combinaciones de estos) que alteran la interacción entre un dominio Fc y un receptor Fc.

[0184] Como se usa en este documento, el término «dímero de dominio Fc» se refiere a un dímero de dos dominios Fc. En un dímero de dominio Fc de tipo salvaje, dos dominios Fc de tipo salvaje se dimerizan por la interacción entre los dos dominios constantes del anticuerpo CH3, así como uno o más enlaces disulfuro que se forman entre los dominios bisagra de los dos dominios Fc dimerizados.

[0185] Como se usa en este documento, el término «variante de dímero del dominio Fc» comprende al menos una variante del dominio Fc. En algunas realizaciones, una variante de dímero de dominio Fc comprende variantes de dominio Fc que están mutadas para carecer de funciones efectoras, por ejemplo, una «variante de dímero de dominio Fc muerta». En algunas realizaciones, cada uno de los dominios Fc en una variante del dímero del dominio Fc incluye sustituciones de aminoácidos en el dominio constante del anticuerpo CH2 para reducir la interacción o unión entre la variante del dímero del dominio Fc y un receptor Fc, como un receptor Fc γ (Fc γ R), un receptor Fc α (Fc α R) o un Fc ϵ (Fc ϵ R).

[0186] En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 (por ejemplo, cualquiera de las variantes descritas en las Tablas 2, 5 y 6) se fusiona con una variante del dominio Fc de una inmunoglobulina o un fragmento de una variante del dominio Fc. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc de una inmunoglobulina o un fragmento de una variante del dominio Fc es capaz de formar un dímero del dominio Fc con otra variante del dominio Fc. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc de una inmunoglobulina o un fragmento de una variante del dominio Fc no es capaz de formar un dímero del dominio Fc con otra variante del dominio Fc. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc o un fragmento de una variante del dominio Fc se fusiona con un polipéptido de la divulgación para aumentar la vida media en suero del polipéptido. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc o un fragmento de una variante del dominio Fc fusionado a un polipéptido de la

divulgación se dimeriza con una segunda variante del dominio Fc para formar una variante del dímero del dominio Fc que se une a un receptor Fc, o alternatively, una variante del dominio Fc se une a un receptor Fc. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc o un fragmento de la variante del dominio Fc fusionado a un polipéptido para aumentar la vida media en suero del polipéptido no induce ninguna respuesta relacionada con el sistema inmunológico.

[0187] En algunas realizaciones, un polipéptido o construcción de SIRP α proporcionado en este documento incluye un dominio SIRP α D1 o una variante de este unido a una primera variante de dominio Fc y un dominio variable de anticuerpo unido a una segunda variante de dominio Fc, donde la primera y segunda variantes de dominio Fc se combinan para formar una variante de dímero de dominio Fc (por ejemplo, una variante de dímero de dominio Fc heterodimérico). Un dímero de dominio Fc es la estructura de la proteína que se encuentra en el extremo C-terminal de una inmunoglobulina. Un dímero de dominio Fc incluye dos dominios Fc que están dimerizados por la interacción entre los dominios constantes del anticuerpo CH3. Un dímero de dominio Fc de tipo salvaje forma la estructura mínima que se une a un receptor Fc, por ejemplo, Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa, Fc γ RIIIb y Fc γ RIV.

[0188] Los dímeros de dominio Fc no se involucran directamente en la unión de un anticuerpo a su objetivo pero pueden estar implicados en varias funciones efectoras, tales como participación del anticuerpo en la toxicidad celular dependiente del anticuerpo. En algunas realizaciones, el dominio Fc en un polipéptido SIRP α o construcción de la divulgación comprende sustituciones, adiciones o inserciones, deleciones de aminoácidos o cualquier combinación de estas que conduzca a una disminución de la función efectora, como una disminución de la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), disminución de la citólisis dependiente del complemento (CDC), disminución de la fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCP) o cualquier combinación de estas. En algunas realizaciones, los polipéptidos SIRP α o construcciones de la divulgación se caracterizan por una disminución de la unión (p. ej., unión mínima o ausencia de unión) a un receptor Fc humano y disminución de la unión (p. ej., unión mínima o ausencia de unión) a la proteína C1q del complemento. En algunas realizaciones, las construcciones de SIRP α de la divulgación se caracterizan por una disminución de la unión (por ejemplo, unión mínima o ausencia de unión) a Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa, Fc γ RIIIb humanos o cualquier combinación de estos y C1q. Para alterar o reducir una función efectora dependiente de anticuerpos, como ADCC, CDC, ADCP o cualquier combinación de estos, en algunas realizaciones, los dominios Fc en las construcciones SIRP α de la divulgación son de la clase IgG y comprenden una o más sustituciones de aminoácidos. en E233, L234, L235, G236, G237, D265, D270, N297, E318, K320, K322, A327, A330, P331 o P329

(numeración según el índice de la UE de Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5a ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD. (1991))).

[0189] En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una región Fc no nativa descritas en este documento exhiben unión reducida o ablacionada a al menos uno de los receptores Fcγ CD16a, CD32a, CD32b, CD32c y CD64 en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc nativa. En algunos casos, las construcciones polipeptídicas descritas en el presente documento exhiben una unión reducida o ablacionada a los receptores CD16a, CD32a, CD32b, CD32c y CD64 Fcγ.

[0190] CDC se refiere a una forma de citotoxicidad donde la cascada del complemento se activa mediante la unión del componente C1q del complemento a los dominios Fc del anticuerpo. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una región Fc no nativa descritas en el presente documento exhiben al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o mayor de reducción en la unión de C1q en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunos casos, las construcciones polipeptídicas que comprenden una región Fc no nativa como se divulga en el presente documento exhiben CDC reducida en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una región Fc no nativa descritas en el presente documento exhiben al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o mayor de reducción en CDC en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunos casos, las construcciones polipeptídicas que comprenden variantes del dominio Fc no naturales o variantes del dímero del dominio Fc como se describen en el presente documento exhiben CDC insignificante en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje.

[0191] En algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc o las variantes del dímero del dominio Fc descritas en el presente documento están mínimamente glicosiladas o tienen una glicosilación reducida con respecto a una secuencia de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la desglicosilación se logra con una mutación de N297A, o mutando N297 en cualquier aminoácido que no sea N. En algunas realizaciones, la desglicosilación se logra interrumpiendo el motivo N-Xaa1-Xaa2-Xaa3, donde N = asparagina; Xaa1 = cualquier aminoácido excepto P (prolina); Xaa2 = T (treonina), S (serina) o C (cisteína); y Xaa3 = cualquier aminoácido excepto P (prolina). En una realización, el motivo N-Xaa1-Xaa2-Xaa3 se refiere a los residuos 297-300 designados según Kabat et ál., 1991. En algunas realizaciones, una mutación en uno cualquiera o más de N, Xaa1, Xaa2 o Xaa3 da como resultado la desglicosilación de la variante del dominio Fc o la variante del dímero del dominio Fc.

[0192] En algunas realizaciones, las variantes de regiones constantes de IgG de anticuerpo (por ejemplo, variantes del dominio Fc o variantes del dímero del dominio Fc) poseen una capacidad reducida para unirse específicamente a receptores Fcγ o tienen una capacidad reducida para inducir fagocitosis. En algunas realizaciones, las variantes de regiones constantes de IgG de anticuerpo (por ejemplo, variantes del dominio Fc o variantes del dímero del dominio Fc) poseen una capacidad reducida para unirse específicamente a receptores Fcγ y tienen una capacidad reducida para inducir fagocitosis. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una variante de dominio Fc se muta para carecer de funciones efectoras, típicas de una variante de dominio Fc «muerta». Por ejemplo, en algunas realizaciones, una variante del dominio Fc incluye sustituciones de aminoácidos específicas que se sabe que minimizan la interacción entre el dímero del dominio Fc y un receptor Fcγ. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc es de un anticuerpo IgG1 e incluye una o más sustituciones de aminoácidos L234A, L235A, G237A y N297A (como se designa según el sistema de numeración EU según Kabat et ál., 1991). En algunas realizaciones, se incluyen una o más mutaciones adicionales en tal variante del dominio Fc de IgG1. Los ejemplos no limitantes de tales mutaciones adicionales para variantes del dominio Fc de IgG1 humana incluyen E318A y K322A. En algunos casos, una variante del dominio Fc de IgG1 humana tiene hasta 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 o 4 o menos mutaciones en total en comparación con la secuencia de IgG1 humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, se incluyen una o más deleciones adicionales en tal variante del dominio Fc de IgG1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la lisina C-terminal de la región constante de la cadena pesada de IgG1 del dominio Fc proporcionada en SEQ ID NO: 88 en la **Tabla 7** se elimina, por ejemplo, para aumentar la homogeneidad del polipéptido cuando el polipéptido se produce en células bacterianas o de mamífero. En algunos casos, una variante del dominio Fc de IgG1 humana tiene hasta 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 o 4 o menos deleciones en total en comparación con la secuencia de IgG1 humana de tipo salvaje (ver, por ejemplo SEQ ID NO. 161 a continuación). En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc de IgG1 tiene una secuencia según cualquiera de SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 136 o SEQ ID NO: 137.

SEQ ID NO: 161:

DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
 EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN
 VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

[0193] En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc es de un anticuerpo IgG2 o IgG4 e incluye sustituciones de aminoácidos A330S, P331S o tanto A330S como P331S. Las posiciones de

aminoácidos mencionadas anteriormente se definen de acuerdo con Kabat, et ál. (1991). Es posible determinar la numeración de residuos de aminoácidos según Kabat para un anticuerpo dado mediante la alineación en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada conforme a Kabat «estándar». En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende una

5 secuencia del dominio Fc de IgG2 humana que comprende una o más sustituciones de aminoácidos A330S, P331S y N297A (como se designa de acuerdo con el sistema de numeración EU según Kabat, et ál. (1991)). En algunas realizaciones, se incluyen una o más mutaciones adicionales en tales variantes del dominio Fc de IgG2. Los ejemplos no limitantes de tales mutaciones adicionales para la variante del dominio Fc de IgG2 humana incluyen V234A, G237A, P238S, V309L y H268A (como se designa

10 según el sistema de numeración de la UE según Kabat et ál. (1991)). En algunos casos, una variante del dominio Fc de IgG2 humana tiene hasta 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o menos mutaciones en total en comparación con la secuencia de IgG2 humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, se incluyen una o más deleciones adicionales en tal variante del dominio Fc de IgG2. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la lisina C-terminal de la región constante de la cadena pesada de IgG2 del

15 dominio Fc proporcionada en SEQ ID NO: 89 en la **Tabla 7** se elimina, por ejemplo, para aumentar la homogeneidad del polipéptido cuando el polipéptido se produce en células bacterianas o de mamífero. En algunos casos, una variante del dominio Fc de IgG2 humana tiene hasta 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5 o 4 o menos deleciones en total en comparación con la secuencia de IgG2 humana de tipo salvaje (ver, por ejemplo SEQ ID NO. 162 a continuación).

20 SEQ ID NO: 162:

```
ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVH
NAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
```

25 **[0194]** Cuando la variante del dominio Fc es una variante del dominio Fc de IgG4, en algunas realizaciones, dicha variante del dominio Fc comprende una mutación S228P (como se designa de acuerdo con Kabat, et ál. (1991)). En algunos casos, una variante del dominio Fc de IgG4 humana tiene hasta 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 o 1 mutaciones en total en comparación con la secuencia de IgG4 humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende una secuencia

30 Fc de IgG4 humana que comprende una o más sustituciones de aminoácidos de S228P, E233P, F234V, L235A y delG236 (como se designa de acuerdo con el sistema de numeración EU según Kabat, et ál. (1991)). En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende una secuencia Fc de IgG4

humana que comprende una o más sustituciones de aminoácidos de S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A (como se designa de acuerdo con el sistema de numeración EU según Kabat, et ál. (1991).

[0195] En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc incluye al menos una de las mutaciones L234A, L235A, G237A o N297A de una región Fc de IgG1 o al menos una de las mutaciones A330S, P331S o N297A de una región Fc de IgG2. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc incluye al menos dos de las mutaciones L234A, L235A, G237A o N297A de una región Fc de IgG1 o al menos dos de las mutaciones A330S, P331S o N297A de una región Fc de IgG2. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc incluye al menos tres de las mutaciones L234A, L235A, G237A o N297A de una región Fc de IgG1 o consiste en las mutaciones A330S, P331S o N297A de una región Fc de IgG2. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc consta de las mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A.

[0196] En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc presenta una unión reducida a un receptor Fc del sujeto en comparación con la región Fc de IgG humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc presenta una unión ablacionada a un receptor Fc del sujeto en comparación con la región Fc de IgG humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc exhibe una reducción de la fagocitosis en comparación con la región Fc de IgG humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc exhibe una fagocitosis ablacionada en comparación con la región Fc de IgG humana de tipo salvaje.

SEQ ID NO: 88 y SEQ ID NO: 89 proporcionan secuencias de aminoácidos de regiones constantes de cadena pesada de IgG1 e IgG2 del dominio Fc. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc es cualquier variante de las SEQ ID NO: 90-95 como se muestra en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Secuencias de aminoácidos de las variantes del dominio Fc

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
88	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89	STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVE

	CPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
90	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
92	VECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
93	VECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
94	ERKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNGKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
95	ERKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNGKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP

SDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
--

[0197] La citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos, a la que también se hace referencia en la presente como ADCC, hace referencia a una forma de citotoxicidad donde la Ig secretada unida a receptores de Fc (FcR) presentes en determinadas células citotóxicas (por ejemplo, células citolíticas naturales (NK) y neutrófilos) permite que estas células efectoras citotóxicas se unan específicamente a una célula diana con antígenos y, posteriormente, destruyan la célula diana. La fagocitosis mediada por células dependientes de anticuerpos, a la que también se hace referencia en la presente como ADCP, hace referencia a una forma de citotoxicidad donde la Ig secretada unida a receptores de Fc (FcR) presentes en determinadas células fagocíticas (por ejemplo, macrófagos) permite que estas células efectoras fagocíticas se unan específicamente a una célula diana con antígenos y, posteriormente, traguen y digieran la célula diana. Los anticuerpos IgG de alta afinidad específicos de ligando dirigidos a la superficie de las células diana pueden estimular las células citotóxicas o fagocíticas y pueden usarse para tal destrucción. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante del dominio Fc o una variante del dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben una ADCC o ADCP reducida en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante del dominio Fc o variante de dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o mayor de reducción en ADCC o ADCP en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante de dominio Fc o variante de dímero de dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben ADCC o ADCP ablacionada en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje.

[0198] La citotoxicidad dirigida por complemento, que también se denomina en el presente documento CDC, se refiere a una forma de citotoxicidad donde la cascada del complemento se activa mediante la unión del componente C1q del complemento a los dominios Fc del anticuerpo. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante del dominio Fc o variante de dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o mayor de reducción en la unión de C1q en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En

algunos casos, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante del dominio Fc o una variante del dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben una CDC reducida en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante del dominio Fc o variante de dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben al menos 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o mayor de reducción en CDC en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje. En algunas realizaciones, las construcciones polipeptídicas que comprenden una variante del dominio Fc o una variante del dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento exhiben una CDC insignificante en comparación con una construcción polipeptídica que comprende una región Fc de tipo salvaje.

[0199] Las variantes del dominio Fc o las variantes del dímero del dominio Fc en este documento incluyen aquellas que exhiben una unión reducida a un receptor Fc γ en comparación con la región Fc de IgG humana de tipo salvaje. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una variante de dominio Fc o variante de dímero de dominio Fc exhibe unión a un receptor Fc γ que es menor que la unión exhibida por una región Fc de IgG humana de tipo salvaje a un receptor Fc γ , como se describe en los Ejemplos. En algunos casos, una variante del dominio Fc o una variante del dímero del dominio Fc ha reducido la unión a un receptor Fc γ en un factor de 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % (función efectora completamente ablacionada). En algunas realizaciones, la unión reducida es para uno cualquiera o más receptores Fc γ , por ejemplo, CD16a, CD32a, CD32b, CD32c o CD64.

[0200] En algunos casos, las variantes del dominio Fc o las variantes del dímero del dominio Fc descritas en el presente documento muestran una reducción de la fagocitosis en comparación con su región Fc de IgG humana de tipo salvaje. Tales variantes de dominio Fc o variantes de dímero de dominio Fc exhiben una reducción en la fagocitosis en comparación con su región Fc de IgG humana de tipo salvaje, donde la reducción de la actividad de fagocitosis es, por ejemplo, por un factor de 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %. En algunos casos, una variante de dominio Fc o variante de dímero de dominio Fc exhibe fagocitosis ablacionada en comparación con su región Fc de IgG humana de tipo salvaje.

[0201] En algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc o las variantes del dímero del dominio Fc descritas en el presente documento se acoplan a uno o más compañeros de fusión. En algunos casos, el compañero de fusión es una fracción terapéutica. En algunos casos, el compañero de fusión se selecciona para permitir el direccionamiento de una proteína expresada, purificación, cribado,

presentación y similares. En algunas realizaciones, el compañero de fusión también afecta el grado de unión a los receptores Fc o el grado de reducción de la fagocitosis. Como se divulga en el presente documento, en algunas realizaciones, cuando una variante de dominio Fc o una variante de dímero de dominio Fc se acopla a un compañero de fusión, forma una construcción polipeptídica como se describe a continuación.

[0202] En algunas realizaciones, los compañeros de fusión se enlazan a la variante del dominio Fc o la secuencia variante del dímero del dominio Fc mediante una secuencia enlazadora. En algunas realizaciones, la secuencia enlazadora generalmente comprende un pequeño número de aminoácidos, tal como menos de diez aminoácidos, aunque también se utilizan enlazadores más largos. En algunos casos, el enlazador tiene una longitud menor de 10, 9, 8, 7, 6 o 5 aminoácidos o menos. En algunos casos, el enlazador tiene una longitud de al menos 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30 o 35 aminoácidos o más. Opcionalmente, en algunas realizaciones, se emplea un enlazador escindible.

[0203] En algunas realizaciones, un compañero de fusión es una secuencia de señalización o de direccionamiento que dirige una variante del dominio Fc o una proteína variante del dímero del dominio Fc y cualquier compañero de fusión asociado a una ubicación celular deseada o al medio extracelular. En algunas realizaciones, ciertas secuencias de señalización se dirigen a una proteína para que sea secretada en el medio de crecimiento o en el espacio periplásmico, ubicado entre la membrana interna y externa de la célula. En algunas realizaciones, un compañero de fusión es una secuencia que codifica un péptido o proteína que permite la purificación o el cribado. Dichos compañeros de fusión incluyen, entre otros, etiquetas de polihistidina (etiquetas His) (por ejemplo, His6 (SEQ ID NO: 223) e His10 (SEQ ID NO: 224)) u otras etiquetas para su uso con sistemas de cromatografía de afinidad de metales inmovilizados (IMAC) (p.ej., columnas de afinidad Ni + 2), fusiones GST, fusiones MBP, etiqueta Strep, la secuencia diana de biotinilación BSP de la enzima bacteriana BirA y etiquetas de epítipo que están dirigidas por anticuerpos (por ejemplo, etiquetas c-myc, etiquetas de bandera y similares).

[0204] En algunas realizaciones, tales etiquetas son útiles para la purificación, para el cribado o ambos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una variante del dominio Fc o una variante del dímero del dominio Fc se purifica usando una etiqueta His inmovilizándola en una columna de afinidad Ni+2, y luego, después de la purificación, se usa la misma etiqueta His para inmovilizar el anticuerpo contra una placa recubierta de Ni+2 para realizar un ELISA u otro ensayo de unión como se describe en otra parte del presente documento. En algunas realizaciones, un compañero de fusión permite el uso de un método de selección para seleccionar variantes del dominio Fc o variantes del dímero del dominio Fc como se divulga en el presente documento.

[0205] Se encuentran disponibles varios compañeros de fusión que permiten una variedad de métodos de selección. Por ejemplo, fusionando los miembros de una variante de dominio Fc o biblioteca de variantes de dímero de dominio Fc con la proteína del gen III, se puede emplear la presentación de fagos. En algunas realizaciones, los compañeros de fusión son variantes de dominio Fc o variantes de dímero de dominio Fc que se van a marcar. Alternativamente, en algunas realizaciones, un compañero de fusión se une a una secuencia específica en el vector de expresión, permitiendo que el compañero de fusión y la variante del dominio Fc asociado o la variante del dímero del dominio Fc se unan covalentemente o no covalentemente con el ácido nucleico que los codifica.

[0206] En algunas realizaciones, cuando un compañero de fusión es un resto terapéutico, el resto terapéutico es, por ejemplo, un péptido, una proteína, un anticuerpo, un ARNip o una molécula pequeña. Los ejemplos no limitantes de anticuerpos terapéuticos que están acoplados a las variantes del dominio Fc o variantes del dímero del dominio Fc de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos que reconocen CD47. Los ejemplos no limitantes de polipéptidos terapéuticos que se acoplan a las variantes del dominio Fc o variantes del dímero del dominio Fc de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, polipéptidos de unión a CD47, incluidos polipéptidos SIRP α . En tales casos, el polipéptido de unión a CD47 se une o fusiona a una variante del dominio Fc o una variante del dímero del dominio Fc de la divulgación. Los ejemplos de polipéptidos de unión a CD47 incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos anti-CD47 o fragmentos de estos, y ligandos de CD47 tales como SIRP α o un fragmento de estos. Los ejemplos adicionales de polipéptidos de unión a CD47 incluyen, pero no se limitan a, formas naturales de SIRP α así como mutantes de este.

[0207] En algunas realizaciones, se describe en el presente documento un polipéptido que comprende una variante de dímero del dominio Fc, donde la variante de dímero del dominio Fc comprende dos variantes del dominio Fc, donde cada variante del dominio Fc se selecciona independientemente de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de IgG2 humana que consiste en mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A. En algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc son idénticas (es decir, homodímero). En algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc son diferentes (es decir, heterodímero). En algunas realizaciones, al menos una de las variantes del dominio Fc en un dímero del dominio Fc es una región Fc de IgG1 humana que consiste en las mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A. En algunas realizaciones, al menos una de las variantes del dominio Fc en un dímero del dominio Fc es una región Fc de IgG2 humana que consiste en las mutaciones A330S, P331S y N297A. En algunas realizaciones, la variante del dímero de dominio Fc presenta una unión ablacionada o

reducida a un receptor Fc γ en comparación con la región Fc de IgG humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dímero de dominio Fc presenta una unión ablacionada o reducida a receptores Fc γ CD16a, CD32a, CD32b, CD32c, y CD64 en comparación con la versión de tipo salvaje de la región Fc de IgG humana. En algunas realizaciones, la variante del dímero de dominio Fc presenta una unión ablacionada o reducida a C1q en comparación con la versión de tipo salvaje de la fusión Fc de IgG humana. En algunas realizaciones, al menos una de las variantes del dominio Fc en una variante del dímero del dominio Fc es una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A. En algunas realizaciones, la variante del dímero de dominio Fc presenta una unión ablacionada o reducida a un receptor Fc γ en comparación con la región Fc de IgG4 humana de tipo salvaje. En algunas realizaciones, la variante del dímero del dominio Fc presenta una unión ablacionada o reducida a receptores Fc γ CD16a y CD32b en comparación con la versión de tipo salvaje de la región Fc de IgG4 humana. En algunas realizaciones, la variante del dímero del dominio Fc se une a un receptor Fc γ con una K_D mayor que aproximadamente 5×10^{-6} M.

[0208] En algunas realizaciones, la variante de dímero del dominio Fc comprende además un polipéptido de unión a CD47. En algunas realizaciones, la variante del dímero de dominio Fc presenta una unión ablacionada o reducida a un receptor Fc γ en comparación con la versión de tipo salvaje de la región Fc de IgG humana. En algunas realizaciones, el polipéptido de unión a CD47 no causa anemia aguda en roedores y primates no humanos. En algunas realizaciones, el polipéptido de unión a CD47 no causa anemia aguda en humanos.

[0209] En algunas realizaciones, el polipéptido de unión a CD47 es un polipéptido de proteína reguladora de señal α (SIRP- α) o un fragmento de este. En algunas realizaciones, el polipéptido SIRP α comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos, EEELQX₁IQPKSVLVAAGETATLRCTX₂TSLX₃PVGPIQWFRGAGPGRX₄LIYNQX₅EGX₆FPRVTTVSDX₇TKRNNMDFSIRIGX₈ITPADAGTYXCX₉KFRKGGSPDDVEFKSGAGTELSVRAKPS (SEQ ID NO: 221), donde X₁ es V o I; X₂ es A o I; X₃ es I o F; X₄ es E o V; X₅ es K o R; X₆ es H o P; X₇ es L o T; X₈ es cualquier aminoácido que no sea N; y X₉ es V o I. En algunas realizaciones, el polipéptido SIRP α comprende una variante del dominio SIRP α D1 donde X₁ es V o I; X₂ es A o I; X₃ es I o F; X₄ es E; X₅ es K o R; X₆ es H o P; X₇ es L o T; X₈ no es N; y X₉ es V.

[0210] En algunas realizaciones, se describe en el presente documento un polipéptido que comprende: una variante del dominio SIRP α D1, donde la variante del dominio SIRP α D1 es un dominio SIRP α D1 de alta afinidad no natural, donde la variante del dominio SIRP α D1 se une a CD47 humano con una afinidad que es al menos 10 veces mayor que la afinidad de un dominio D1 de origen natural; y una variante del dominio Fc, donde la variante del dominio Fc se une a un segundo polipéptido que

comprende una segunda variante del dominio Fc para formar una variante del dímero del dominio Fc, donde la variante del dímero del dominio Fc tiene una función efectora ablacionada o reducida. En algunas realizaciones, el dominio SIRP α D1 de alta afinidad no natural comprende una mutación de aminoácido en el residuo 80.

5 **[0211]** En algunas realizaciones, se divulga en el presente documento una variante del dominio SIRP α D1, donde la variante del dominio SIRP α D1 se une a CD47 de una primera especie con una KD menor que 250 nM; y donde la variante del dominio SIRP α D1 se une a CD47 de una segunda especie con una KD menor que 250 nM; y la KD para CD47 de la primera especie y la KD para CD47 de la segunda especie están dentro de 100 veces entre sí; donde la primera especie y la segunda
10 especie se seleccionan del grupo que consiste en: humano, roedor y primate no humano. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 se une a CD47 de al menos 3 especies diferentes. En algunas realizaciones, el primate no humano es un mono cynomolgus.

[0212] En algunas realizaciones, se divulga en el presente documento un polipéptido que comprende (a) un dominio SIRP α D1 que se une a CD47 humano con una KD menor de 250 nM; y (b)
15 un dominio Fc o una variante de este unido al extremo N-terminal o al C-terminal del dominio SIRP α D1, donde el polipéptido no causa anemia aguda en roedores y primates no humanos. En algunas realizaciones, el polipéptido es una variante no natural de un SIRP- α humano. En algunas realizaciones, la administración del polipéptido in vivo da como resultado una reducción de la hemoglobina en menos del 50 % durante la primera semana después de la administración. En algunas realizaciones, la
20 administración del polipéptido en humanos da como resultado una reducción de la hemoglobina en menos del 50 % durante la primera semana después de la administración. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende además al menos una variante de dímero del dominio Fc, donde la variante de dímero del dominio Fc comprende una variante del dominio Fc que se selecciona de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de
25 IgG2 humana que consiste en mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es una región Fc de IgG1 humana que consiste en las mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es una región Fc de IgG2 humana que consiste en mutaciones A330S, P331S y N297A.

30 **[0213]** Las construcciones SIRP α de la divulgación incluyen un dominio SIRP α o una variante de este que tiene su extremo C unido al extremo N de un dominio Fc o una variante de este por medio de un enlazador usando medios genéticos o químicos convencionales, por ejemplo, conjugación química. En algunas realizaciones, se inserta un enlazador (por ejemplo, un espaciador) entre el polipéptido y el

dominio Fc o una variante de este. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación que incluye una variante del dominio SIRP α D1 se fusiona con una variante del dominio Fc que es incapaz de formar un dímero. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación se fusiona con un dominio Fc o una variante de este que es capaz de formar un dímero, por ejemplo, un heterodímero, con otro dominio Fc o una variante de este. En algunas realizaciones, un polipéptido de la invención se fusiona con un dominio Fc o una variante de este y esta proteína de fusión forma un homodímero. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación se fusiona con un primer dominio Fc o una variante de este y una proteína o péptido diferente (por ejemplo, una región variable de anticuerpo) se fusiona con un segundo dominio Fc o una variante de este. En algunas realizaciones, un dominio SIRP α D1 o una variante de este se une a un primer dominio Fc o una variante de este y una proteína terapéutica (por ejemplo, una citocina, una interleucina, un antígeno, un esteroide, un agente antiinflamatorio o un agente inmunomodulador) se une a un segundo dominio Fc o una variante de este. En algunas realizaciones, el primer y segundo dominios Fc o variantes de estos forman un heterodímero.

[0214] Sin limitar lo anterior, en algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 (por ejemplo, cualquiera de las variantes descritas en las Tablas 2, 5 y 6) se fusiona con un polipéptido Fc o un polipéptido de variante de Fc, tal como un dominio Fc o variante de este. Los ejemplos de polipéptidos que comprenden un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 y un polipéptido de variante del dominio Fc fusionado incluyen, pero no se limitan a, SEQ ID NOS: 96-137, 214 y 216 que se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Polipéptidos que comprenden variantes del dominio SIRP α D1 fusionadas con variantes del dominio Fc

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
96	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCYKFRKGGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

97	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
98	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
99	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
100	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
101	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK

	GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDFSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
102	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDFSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
103	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDFSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
104	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDFSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
105	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYICIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCK KVSNGKLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDFSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
106	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGNITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGA GT TELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

	HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
107	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKC KVSNNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
108	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPDDVEFKSGA GTLSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
109	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPDDVEFKSGA GTLSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
110	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

111	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
112	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
113	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
114	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSERKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
115	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGA GTLSVRAKPSERKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL

	VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
116	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCIKFRKGGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSEKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
117	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRQ GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSEKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
118	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSEKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
119	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSEKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
120	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSEKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV

	VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
121	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSERKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
122	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSERKSSVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
123	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYICIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
124	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYICIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

125	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
126	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
127	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
128	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
129	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK

	GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
130	EEELQVIQPDKSVSVAAGESAILHCTVTSVIPVGPIQWFRGAGPARELIYNQKEG HFPRVTTVSESTKRENMDFSISISNITPADAGTYYCVKFRKGSPDTEFKSGAGTE LSVRAKPSESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
131	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
132	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSESKYGPPCPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
133	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSESKYGPPCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
134	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSAAAPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD

	VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
135	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
136	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
137	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLRPVGPIQWFRGAGPGRVLINQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
211	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLRPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRDG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYICVKFRKGIPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

214	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDLTRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSGA GTELSVRAKPSERKSSVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVSVSLTVVHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
216	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYCIKFRKGSPDDVEFKSGAGT ELSVRAKPSDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
217	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQREG PFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYVKFRKGSPDDVEFKSGAG TELSVRAKPSKHTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCEVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0215] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) a cualquier variante proporcionada en la **Tabla 8**.

[0216] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende una variante del dominio SIRP α D1 que tiene al menos 85 % de identidad de secuencia (por ejemplo, al menos 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % de identidad de secuencia) a SEQ ID NO: 98-104, 107-113, 116-122, o 135-137 en la **Tabla 8**.

[0217] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende (a) una proteína reguladora de señal α (SIRP- α) variante D1, donde la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos,

EEX₁X₂QX₃IQPDKX₄VX₅VAAGEX₆X₇X₈LX₉CTX₁₀TSLX₁₁PVGPIQWFRGAGPX₁₂RX₁₃LIYNQX₁₄X₁₅GX₁₆FPRVTTVSX₁₇X₁₈TX₁₉RX₂₀NMDFX₂₁IX₂₂IX₂₃X₂₄ITX₂₅ADAGTYXCX₂₆KX₂₇RKGSPDX₂₈X₂₉EX₃₀KSGAGTELSVRX₃₁KPS (SEQ ID NO: 47), donde X₁ es E, o G; X₂ es L, I, o V; X₃ es V, L, o I; X₄ es S, o F; X₅ es L, o S; X₆ es S, o T; X₇ es A, o V; X₈ es I, o T; X₉ es H, R, o L; X₁₀ es A, V, I, o L; X₁₁ es I, T, S, o F; X₁₂ es A, o G; X₁₃ es E, V, o L; X₁₄ es K, o R; X₁₅ es E, o Q; X₁₆ es H, P, o R; X₁₇ es D, o E; X₁₈ es S, L, T, o G; X₁₉ es K, o R; X₂₀ es E, o N; X₂₁ es S, o P; X₂₂ es S, o R; X₂₃ es S, o G; X₂₄ es cualquier aminoácido; X₂₅ es cualquier aminoácido; X₂₆ es V, o I; X₂₇ es F, L, o V; X₂₈ es D o está ausente; X₂₉ es T, o V; X₃₀ es F, o V; y X₃₁ es A, o G; y donde la variante del dominio SIRPα D1 comprende al menos dos sustituciones de aminoácidos con respecto a un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje que tiene una secuencia de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 1 a 10; y (b) una variante de dímero de dominio Fc que tiene dos variantes de dominio Fc, donde cada variante de dominio Fc es independientemente (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende una mutación N297A; (ii) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A y G237A; (iii) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (iv) una región Fc de IgG2 humana que comprende una mutación N297A; (v) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S y P331S; (vi) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A; (vii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236; o (viii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A.

[0218] En algunas realizaciones, el polipéptido comprende una variante del dominio SIRPα D1 donde la variante del dominio SIRPα D1 comprende una secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 47; un dímero del dominio Fc que tiene dos dominios Fc, donde uno de los dominios Fc es una variante del dominio Fc que comprende una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A.

Dimerización de dominios Fc

[0219] En algunas realizaciones, un polipéptido de variante del dominio SIRPα D1 (p. ej., cualquiera de las variantes descritas en las Tablas 2, 5 y 6) se fusiona con un primer dominio Fc (p. ej., una variante del dominio Fc) en el extremo N-terminal o en el C-terminal. En algunas realizaciones, el primer dominio Fc es una variante que es incapaz de formar un dímero. En algunas realizaciones, el primer dominio Fc forma un dímero con un segundo dominio Fc. En algunas realizaciones, el primer y segundo dominio Fc comprenden sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización entre el primer y segundo dominio Fc.

[0220] En algunas realizaciones, cada uno de los dos dominios Fc en un dímero de dominio Fc incluye sustituciones de aminoácidos que promueven la heterodimerización de los dos monómeros. En algunas realizaciones, una construcción de SIRP α se forma, por ejemplo, a partir de una primera subunidad que incluye un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 fusionado a un primer dominio Fc y una segunda subunidad que incluye un segundo dominio Fc (por ejemplo, sin un polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 o cualquier otro polipéptido). En algunas realizaciones, una construcción tiene un único polipéptido de variante del dominio SIRP α D1 unido a un dímero del dominio Fc (por ejemplo, un solo brazo). En algunas realizaciones, una construcción tiene dos polipéptidos de variantes del dominio SIRP α D1 unido a un dímero del dominio Fc (*por ejemplo*, doble brazo). En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 500 nM es particularmente útil en una construcción de doble brazo. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 50 nM es particularmente útil en una construcción de doble brazo. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 5 nM es útil en una construcción de doble brazo y una construcción de brazo único. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 500 pM es útil en una construcción de doble brazo y una construcción de brazo único. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 100 pM es útil en una construcción de doble brazo y una construcción de brazo único. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 50 pM es útil en una construcción de doble brazo y una construcción de brazo único. En algunas realizaciones, una variante del dominio SIRP α D1 que tiene una KD de aproximadamente 10 pM es útil en una construcción de doble brazo y una construcción de brazo único.

[0221] En algunas realizaciones, la heterodimerización de los dominios Fc se promueve mediante la introducción de sustituciones diferentes, pero compatibles, en los dos dominios Fc, tales como pares de residuos de «botón en ojal» y pares de residuos de carga. La interacción botón y ojal favorece la formación de heterodímeros, mientras que la interacción botón-botón y ojal-ocal dificultan la formación de homodímeros debido al choque estérico y la eliminación de interacciones favorables. Un ojal se refiere a un vacío que se crea cuando un aminoácido original en una proteína se reemplaza con un aminoácido diferente que tiene un volumen de cadena lateral más pequeño. Un botón se refiere a una protuberancia que se crea cuando un aminoácido original en una proteína se reemplaza con un aminoácido diferente que tiene un volumen de cadena lateral más grande. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un aminoácido que se reemplaza está en el dominio constante del anticuerpo CH3 de un dominio Fc y está involucrado en la dimerización de dos dominios Fc. En algunas realizaciones, se crea un ojal en un dominio constante de anticuerpo CH3 para acomodar un botón en otro dominio constante

de anticuerpo CH3, de modo que los aminoácidos de botón y ojal actúan para promover o favorecer la heterodimerización de los dos dominios Fc. En algunas realizaciones, se crea un ojal en un dominio constante de anticuerpo CH3 para acomodar mejor un aminoácido original en otro dominio constante de anticuerpo CH3. En algunas realizaciones, se crea un botón en un dominio constante del anticuerpo CH3 para formar interacciones adicionales con los aminoácidos originales en otro dominio constante del anticuerpo CH3.

[0222] En algunas realizaciones, se construye un ojal al reemplazar aminoácidos que tienen cadenas laterales más grandes, como tirosina o triptófano, con aminoácidos que tienen cadenas laterales más pequeñas, como alanina, valina o treonina, por ejemplo, una mutación Y407V en el dominio constante del anticuerpo CH3. De manera similar, en algunas realizaciones, se construye un botón al reemplazar los aminoácidos que tienen cadenas laterales más pequeñas con aminoácidos que tienen cadenas laterales más grandes, por ejemplo, una mutación T366W en el dominio constante del anticuerpo CH3. En algunas realizaciones, un dominio Fc incluye la mutación de botón T366W y el otro dominio Fc incluye mutaciones de ojal T366S, L358A e Y407V. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación que incluye una variante del dominio SIRP α D1 se fusiona con un dominio Fc que incluye la mutación de botón T366W para limitar la formación de homodímeros de botón-botón no deseados. En la **Tabla 9** se incluyen ejemplos de pares de aminoácidos de botón en ojal, y en la **Tabla 10** se proporcionan ejemplos de variantes de dominio Fc de botón en ojal y fusiones SIRP α - Fc.

Tabla 9. Pares de aminoácidos de botón en ojal

Primer dominio Fc	Y407T	Y407A	F405A	T394S	T366S L358A Y407V	T394W Y407T	T394S Y407A	T366W T394S
Segundo dominio Fc	T366Y	T366W	T394W	F405W	T366W	T366Y F405A	T366W F405W	F405W Y407A

Tabla 10. Variantes de dominio Fc ilustrativas y polipéptidos de fusión de variante de dominio de SIRP α D1 - variante de dominio Fc

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
---------------	--------------------------

138	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPPDDVEFKSG AGTELSVRAPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
139	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
140	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRVLIYNQRQ GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPPDDVEFKSG AGTELSVRAPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
141	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
142	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPPDDVEFKSG AGTELSVRAPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
143	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYCYKFRKGSPPDDVEFKSG

	AGTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LSCAVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
144	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWLGVI WSGGNTDYNTPTFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARALTYD YEFAYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCRKTHTCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLTCLVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
145	EEELQIIQPDKSVLVAAGETATLRCTITSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQRE GPFPRVTTVSDTTKRNNMDFSIRIGAITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKSG AGTELSVRAKPSEKTHTCPECPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LTCEVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
146	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR QGPFPRVTTVSDLTKRNNMDFSIRIGNITPADAGTYYCVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLWCLVKGFYPSPDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
147	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSPD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

148	EEELQVIQPDKSVLVAAGETATLRCTATSLFPVGPIQWFRGAGPGRELIYNQR QGPFPRTTVSDLTNRNNMDFSIRIGNITPADAGTYICVKFRKGSPDDVEFKS GAGTELSVRAKPSDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLSCAVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLVSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
149	DKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0223] Además de la estrategia de botón en ojal, en algunas realizaciones, la dirección electrostática también se usa para controlar la dimerización de los dominios Fc. La dirección electrostática se refiere a la utilización de interacciones electrostáticas favorables entre aminoácidos con carga opuesta en péptidos, dominios proteicos y proteínas para controlar la formación de moléculas proteicas de orden superior. En particular, para controlar la dimerización de los dominios Fc usando dirección electrostática, uno o más residuos de aminoácidos que forman la interfaz CH₃-CH₃ se reemplazan con residuos de aminoácidos cargados positiva o negativamente de manera que la interacción se vuelve electrostáticamente favorable o desfavorable dependiendo de los aminoácidos cargados específicos introducidos. En algunas realizaciones, un aminoácido cargado positivamente en la interfaz, como lisina, arginina o histidina, se reemplaza con un aminoácido cargado negativamente como ácido aspártico o ácido glutámico. En algunas realizaciones, un aminoácido cargado negativamente en la interfaz se reemplaza por un aminoácido cargado positivamente. En algunas realizaciones, los aminoácidos cargados se introducen en uno de los dominios constantes del anticuerpo CH₃ que interactúan o en ambos. En algunas realizaciones, la introducción de aminoácidos cargados en los dominios constantes del anticuerpo CH₃ que interactúan de los dos dominios Fc promueve la formación selectiva de heterodímeros de dominios Fc controlados por los efectos de dirección electrostática que resultan de la interacción entre aminoácidos cargados. En la **Tabla 11** se incluyen ejemplos de pares de aminoácidos de dirección electrostática, sin limitación.

Tabla 11. Pares de aminoácidos de dirección electrostática

Monómero 1 del dominio Fc	K409 D	K409 D	K409 E	K409 E	K392 D	K392 D	K392E	K392 E	K409 D K392 D	K370 E K409 D K439 E
Monómero 2 del dominio Fc	D399 K	D399 R	D399 K	D399 R	D399 K	D399 R	D399 9K	D399 R	D399 K D356 K	D356 K E357 K D399 K

[0224] Están disponibles otros métodos usados para controlar la heterodimerización de los dominios Fc, especialmente en el contexto de la construcción de un anticuerpo biespecífico.

[0225] En algunas realizaciones, un primer dominio Fc y un segundo dominio Fc incluyen cada uno una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L351K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R, E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T y K409I, en relación con la secuencia de IgG1 humana.

[0226] En algunas realizaciones, un dominio Fc comprende: (a) una de las siguientes sustituciones de aminoácidos con respecto a la IgG1 humana de tipo salvaje: T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L351K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R, E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T o K409I; o (b) (i) una mutación N297A relativa a una región Fc de IgG1 humana; (ii) una mutación L234A, L235A y G237A relativa a una región Fc de IgG1 humana; (iii) una mutación L234A, L235A, G237A y N297A relativa a una región Fc de IgG1 humana; (iv) una mutación N297A relativa a una región Fc de IgG2 humana; (v) una mutación A330S y P331S relativa a una región Fc de IgG2 humana; (vi) una mutación A330S, P331S y N297A relativa

a una región Fc de IgG2 humana; (vii) una mutación S228P, E233P, F234V, L235A y delG236 relativa a una región Fc de IgG4 humana; o (viii) una mutación S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A relativa a una región Fc de IgG4 humana. En algunas realizaciones, una variante del dominio Fc comprende: (a) una de las siguientes sustituciones de aminoácidos con respecto a la IgG1 humana de tipo salvaje: T366W, T366S, L368A, Y407V, T366Y, T394W, F405W, Y349T, Y349E, Y349V, L351T, L351H, L351N, L351K, P353S, S354D, D356K, D356R, D356S, E357K, E357R, E357Q, S364A, T366E, L368T, L368Y, L368E, K370E, K370D, K370Q, K392E, K392D, T394N, P395N, P396T, V397T, V397Q, L398T, D399K, D399R, D399N, F405T, F405H, F405R, Y407T, Y407H, Y407I, K409E, K409D, K409T o K409I; y (b) comprende además (i) una mutación N297A relativa a una región Fc de IgG1 humana; (ii) una mutación L234A, L235A y G237A relativa a una región Fc de IgG1 humana; (iii) una mutación L234A, L235A, G237A y N297A relativa a una región Fc de IgG1 humana; (iv) una mutación N297A relativa a una región Fc de IgG2 humana; (v) una mutación A330S y P331S relativa a una región Fc de IgG2 humana; (vi) una mutación A330S, P331S y N297A relativa a una región Fc de IgG2 humana; (vii) una mutación S228P, E233P, F234V, L235A y delG236 relativa a una región Fc de IgG4 humana; o (viii) una mutación S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A relativa a una región Fc de IgG4 humana.

[0227] En algunas realizaciones, el primer y segundo dominios Fc incluyen diferentes sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, el primer dominio Fc incluye T366W. En algunas realizaciones, el segundo dominio Fc incluye T366S, L368A e Y407V. En algunas realizaciones, el primer dominio Fc incluye D399K. En algunas realizaciones, el segundo dominio Fc incluye K409D.

Enlazadores

[0228] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describen polipéptidos que comprenden una variante de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) D1 que tiene un dominio SIRP α D1, o un fragmento de este, que comprenden una mutación de aminoácido en el residuo 80 con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje y al menos una mutación de aminoácido adicional relativa a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje en un residuo seleccionado del grupo que consiste en: residuo 6, residuo 27, residuo 31, residuo 47, residuo 53, residuo 54, residuo 56, residuo 66 y residuo 92.

[0229] También se describen en el presente documento, en algunas realizaciones, polipéptidos que comprenden una variante Fc, donde la variante Fc comprende un dímero de dominio Fc que comprende dos variantes del dominio Fc, donde cada variante del dominio Fc se selecciona independientemente de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de IgG2 humana que consiste en las mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una

región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A.

[0230] En la presente divulgación, se usa un enlazador para describir un enlace o conexión entre polipéptidos o dominios proteicos o restos no proteicos asociados. En algunas realizaciones, un enlazador es un enlace o conexión entre un dominio Fc (o una variante de este) y una variante del dominio SIRP α D1. En algunas realizaciones, el enlazador conecta el extremo C de la variante del dominio SIRP α D1 y el extremo N de la variante del dominio Fc, de manera que los dos polipéptidos se unen entre sí en series en tándem.

[0231] En algunas realizaciones, un enlazador es un enlace covalente simple, por ejemplo, un enlace peptídico, un polímero sintético o cualquier tipo de enlace creado a partir de una reacción química, por ejemplo, conjugación química. Cuando un enlazador es un enlace peptídico, en algunas realizaciones, el grupo ácido carboxílico en el extremo C-terminal de un dominio proteico reacciona con el grupo amino en el extremo N-terminal de otro dominio proteico en una reacción de condensación para formar un enlace peptídico. En algunas realizaciones, el enlace peptídico se forma a partir de medios sintéticos a través de una reacción química orgánica convencional, o por producción natural a partir de una célula hospedadora, donde una molécula de ácido nucleico que codifica las secuencias de ADN de ambas proteínas (p. ej., una variante del dominio Fc y una variante del dominio SIRP α D1) en serie en tándem se puede transcribir directamente y traducir en un polipéptido contiguo que codifica ambas proteínas mediante las maquinarias moleculares necesarias (por ejemplo, ADN polimerasa y ribosoma) en la célula hospedadora.

[0232] Cuando un enlazador es un polímero sintético, en algunas realizaciones, el polímero se funcionaliza con grupos funcionales químicos reactivos en cada extremo para reaccionar con los aminoácidos terminales en los extremos de conexión de dos proteínas.

[0233] Cuando un enlazador (excepto el enlace peptídico mencionado anteriormente) se produce a partir de una reacción química, en algunas realizaciones, los grupos funcionales químicos (p. ej., amina, ácido carboxílico, éster, azida u otros grupos funcionales) se unen sintéticamente al extremo C de una proteína y el extremo N de otra proteína, respectivamente. En algunas realizaciones, los dos grupos funcionales luego reaccionan a través de medios químicos sintéticos para formar un enlace químico, conectando así las dos proteínas entre sí.

Espaciadores

[0234] En la presente divulgación, en algunas realizaciones, un enlazador entre un monómero de dominio Fc y un polipéptido de variante SIRP α D1 de la divulgación es un espaciador de aminoácidos

que incluye aproximadamente 1-200 aminoácidos. Los espaciadores de péptidos adecuados incluyen enlazadores de péptidos que contienen residuos de aminoácidos flexibles tales como glicina y serina. En la **Tabla 12** se proporcionan ejemplos de secuencias enlazadoras. En algunas realizaciones, un espaciador contiene motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetidos, de GS, GG, GGS, GGG, GGGGS (SEQ ID NO: 163), GGSG (SEQ ID NO: 164) o SGGG (SEQ ID NO: 165). En algunas realizaciones, un espaciador contiene de 2 a 12 aminoácidos que incluyen motivos de GS, por ejemplo, GS, GSGS (SEQ ID NO: 166), GSGSGS (SEQ ID NO: 167), GSGSGSGS (SEQ ID NO: 168), GSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 169) o GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO: 170). En algunas realizaciones, un espaciador contiene de 3 a 12 aminoácidos que incluyen motivos de GGS, por ejemplo, GGS, GGSGGS (SEQ ID NO: 171), GGSGGSGGS (SEQ ID NO: 172) y GGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO: 173). En algunas realizaciones, un espaciador contiene de 4 a 12 aminoácidos que incluyen motivos de GGSG (SEQ ID NO: 164), por ejemplo, GGSG (SEQ ID NO: 164), GGSGGGSG (SEQ ID NO: 174) o GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO: 175). En algunas realizaciones, un espaciador contiene motivos de GGGGS (SEQ ID NO: 163), por ejemplo, GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 176). En algunas realizaciones, un espaciador contiene aminoácidos distintos de la glicina y la serina, por ejemplo, AAS (SEQ ID NO: 177), AAAL (SEQ ID NO: 178), AAK (SEQ ID NO: 179), AAAR (SEQ ID NO: 180), EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO: 181), GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO: 182), AEAAAKEAAKA (SEQ ID NO: 183), KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 184), GGGGAGGGG (SEQ ID NO: 185), GENLYFQSGG (SEQ ID NO: 186), SACYCELS (SEQ ID NO: 187), RSIAT (SEQ ID NO: 188), RPACKIPNDLKQKVMNH (SEQ ID NO: 189), GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID NO: 190), AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO: 191) o GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 192).

[0235] En algunas realizaciones, un espaciador contiene motivos, por ejemplo, motivos múltiples o repetidos, de EAAAK (SEQ ID NO: 193). En algunas realizaciones, un espaciador contiene motivos, p. ej., motivos múltiples o repetidos, de secuencias ricas en prolina como (XP)_n, donde X es cualquier aminoácido (p. ej., A, K o E) y n es de 1 -5 y PAPAP (SEQ ID NO: 194).

Tabla 12. Secuencias del enlazador

SEQ ID NO:	Secuencia de aminoácidos
163	GGGGS
164	GGSG
165	SGGG

166	GSGS
167	GSGSGS
168	GSGSGSGS
169	GSGSGSGSGS
170	GSGSGSGSGSGS
171	GGSGGS
172	GGSGGSGGS
173	GGSGGSGGSGGS
174	GGSGGGSG
175	GGSGGGSGGGSG
176	GGGGSGGGGSGGGGS
177	AAS
178	AAAL
179	AAAK
180	AAAR
181	EGKSSGSGSESKST
182	GSAGSAAGSGEF
183	AEAAAKEAAKA
184	KESGSVSSEQLAQFRSLD
185	GGGGAGGGG
186	GENLYFQSGG
187	SACYCELS
188	RSIAT
189	RPACKIPNDLKQKVMNH
190	GSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG
191	AAANSSIDLISVPVDSR
192	GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS
193	EAAAK
194	PAPAP

[0236] En algunas realizaciones, la longitud del péptido espaciador y los aminoácidos usados se ajusta dependiendo de las dos proteínas involucradas y el grado de flexibilidad deseado en el polipéptido de fusión de proteínas final. En algunas realizaciones, la longitud del espaciador se ajusta

para asegurar un plegamiento de proteínas adecuado y evitar la formación de agregados. En algunas realizaciones, un espaciador es A o AAAL (SEQ ID NO: 178).

Vectores, células hospedadoras y producción de proteínas

[0237] En el presente documento, en algunas realizaciones, se describen polipéptidos que comprenden una variante de proteína reguladora de señales α (SIRP- α) D1 que tiene un dominio SIRP α D1, o un fragmento de este, que comprenden una mutación de aminoácido en el residuo 80 con respecto a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje y al menos una mutación de aminoácido adicional relativa a un dominio SIRP α D1 de tipo salvaje en un residuo seleccionado del grupo que consiste en: residuo 6, residuo 27, residuo 31, residuo 47, residuo 53, residuo 54, residuo 56, residuo 66 y residuo 92.

[0238] También se divulgan en el presente documento, en algunas realizaciones, polipéptidos que comprenden una variante Fc, donde la variante Fc comprende un dímero del dominio Fc que tiene dos monómeros del dominio Fc, donde cada variante del dominio Fc se selecciona independientemente de (i) una región Fc de IgG1 humana que consiste en mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A; (ii) una región Fc de IgG2 humana que consiste en las mutaciones A330S, P331S y N297A; o (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A.

[0239] En algunas realizaciones, los polipéptidos de la divulgación se producen a partir de una célula hospedadora. Una célula hospedadora se refiere a un vehículo que incluye los componentes celulares necesarios, por ejemplo, orgánulos, necesarios para expresar los polipéptidos y polipéptidos de fusión descritos en el presente documento a partir de sus correspondientes ácidos nucleicos. En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos se incluyen en vectores de ácidos nucleicos introducidos en la célula hospedadora mediante transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato cálcico, microinyección directa, infección, etc. En algunas realizaciones, la elección del vector de ácido nucleico depende de la célula hospedadora que se utilizará. En algunas realizaciones, las células hospedadoras son de origen procariótico (por ejemplo, bacteriano) o eucariótico (por ejemplo, de mamífero).

[0240] En algunas realizaciones, un polipéptido, por ejemplo una construcción polipeptídica que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (por ejemplo, cualquier variante proporcionada en las Tablas 2, 5 y 6) y un compañero de fusión tal como una variante Fc se producen cultivando una célula hospedadora transformada con un ácido nucleico, preferiblemente un vector de expresión, que contiene un ácido nucleico que codifica la construcción polipeptídica (por ejemplo, variante Fc, enlazador y compañero de fusión) en las condiciones apropiadas para inducir o provocar la expresión de la

construcción polipeptídica. En algunas realizaciones, las condiciones apropiadas para la expresión varían con el vector de expresión y la célula hospedadora elegidos. En algunas realizaciones, se usa una amplia variedad de células hospedadoras apropiadas, que incluyen, pero no se limitan a, células de mamíferos, bacterias, células de insectos y levaduras. Por ejemplo, una variedad de líneas celulares que encuentran uso en la presente divulgación se describen en el catálogo de líneas celulares ATCC®, disponible en American Type Culture Collection. En algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc de esta divulgación se expresan en una célula que está optimizada para no glicosilar proteínas que son expresadas por dicha célula, ya sea por ingeniería genética de la línea celular o modificaciones de las condiciones del cultivo celular como la adición de kifunensina o por utilizando un hospedador que no se glicosila de forma natural tal como un procariota (*E. coli*, *etc.*) y, en algunos casos, no es necesaria la modificación de la secuencia de glicosilación en el Fc.

Construcción de vectores de ácido nucleico y células hospedadoras

[0241] Se puede preparar una secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de un polipéptido de la divulgación mediante una variedad de métodos. Estos métodos incluyen, pero no se limitan a, mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida al sitio) y mutagénesis por PCR. En algunas realizaciones, se obtiene una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de la divulgación usando técnicas estándar, por ejemplo, síntesis de genes. Alternativamente, una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio SIRPα D1 de tipo salvaje se muta para incluir sustituciones de aminoácidos específicas usando técnicas estándar, por ejemplo, mutagénesis QuikChange™. En algunos casos, las moléculas de ácido nucleico se sintetizan utilizando un sintetizador de nucleótidos o técnicas de PCR.

[0242] En algunas realizaciones, los ácidos nucleicos que codifican una construcción polipeptídica, por ejemplo, una construcción polipeptídica que comprende una variante del dominio SIRPα D1 (por ejemplo, cualquier variante proporcionada en las Tablas 2, 5 y 6) y un compañero de fusión como una variante Fc se incorporan a un vector de expresión para expresar la proteína. Se puede utilizar una variedad de vectores de expresión para la expresión de proteínas. Los vectores de expresión pueden comprender vectores extracromosómicos autorreplicantes o vectores que se integran en un genoma del huésped. Un vector también puede incluir varios componentes o elementos. Por ejemplo, en algunas realizaciones, los componentes del vector incluyen, pero no se limitan a, secuencias reguladoras transcripcionales y traduccionales tales como una secuencia promotora, un sitio de unión ribosomal, una secuencia señal, secuencias de inicio y detención de la transcripción, secuencias de inicio y detención de la traducción, regiones no traducidas (UTR) 3' y 5' y secuencias potenciadoras o activadoras; un origen de replicación; un gen marcador de selección; y la secuencia de ácido nucleico

que codifica el polipéptido de interés, y una secuencia de terminación de la transcripción. En algunas realizaciones, los vectores de expresión comprenden una proteína unida operativamente con secuencias reguladoras o de control, marcadores seleccionables, cualquier compañero de fusión, elementos adicionales o cualquier combinación de estos. El término «unido operativamente» significa que el ácido nucleico se coloca en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Generalmente, estos vectores de expresión incluyen ácido nucleico regulador transcripcional y traduccional unido operativamente al ácido nucleico que codifica la variante Fc y son típicamente apropiados para la célula hospedadora usada para expresar la proteína. Se puede usar un gen o marcador de selección, tal como, pero sin limitarse a, un gen de resistencia a antibióticos o un gen de proteína fluorescente, para seleccionar células hospedadoras que contienen el vector de expresión, por ejemplo mediante expresión de antibiótico o fluorescencia. Están disponibles varios genes de selección.

[0243] En algunas realizaciones, los componentes o elementos de un vector se optimizan de manera que los vectores de expresión sean compatibles con el tipo de célula hospedadora. Los vectores de expresión que encuentran uso en la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, aquellos que permiten la expresión de proteínas en células de mamíferos, bacterias, células de insectos, levaduras y en sistemas in vitro.

[0244] En algunas realizaciones, se usan células de mamífero como células hospedadoras para producir polipéptidos de la divulgación. Los ejemplos de tipos de células de mamíferos incluyen, entre otros, riñón embrionario humano (HEK) (p. ej., HEK293, HEK 293F), ovario de hámster chino (CHO), HeLa, COS, PC3, Vero, MC3T3, NS0, Sp2/0, VERY, BHK, MDCK, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20, T47D, NS0 (una línea celular de mieloma murino que no produce endógenamente ninguna cadena de inmunoglobulina), CRL7030 y células HsS78Bst. En algunas realizaciones, las células de E. coli se usan como células hospedadoras para producir polipéptidos de la divulgación. Ejemplos de cepas de E. coli incluyen, pero no se limitan a, E. coli 294 (ATCC® 31.446), E. coli λ 1776 (ATCC® 31.537, E. coli BL21 (DE3) (ATCC® BAA-1025) y E. coli RV308 (ATCC® 31.608).

[0245] Las diferentes células hospedadoras tienen mecanismos característicos y específicos para el procesamiento y modificación postraduccionales de productos proteicos (p. e., glicosilación). En algunas realizaciones, se eligen líneas celulares o sistemas hospedadores apropiados para asegurar la modificación y el procesamiento correctos del polipéptido expresado. Una vez que los vectores se introducen en células hospedadoras para producción de proteínas, se cultivan células hospedadoras en medios nutritivos convencionales modificados según corresponda para inducir promotores, seleccionar transformadores o amplificar genes que codifican las secuencias deseadas.

[0246] En algunas realizaciones, una construcción polipeptídica, por ejemplo, una construcción polipeptídica que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (por ejemplo, cualquier variante proporcionada en las Tablas 2, 5 y 6) y un compañero de fusión como una variante Fc se expresan en sistemas de expresión de mamíferos, inclusive sistemas en los que las construcciones de expresión se introducen en las células de mamífero usando virus tales como retrovirus o adenovirus. En algunas realizaciones, se utilizan células humanas, de ratón, de rata, de hámster o de primates. Las células adecuadas también incluyen células de investigación conocidas, que incluyen pero no se limitan a células T Jurkat, células NIH3T3, CHO, COS y 293. Alternativamente, en algunas realizaciones, las proteínas se expresan en células bacterianas. Los sistemas de expresión bacteriana son bien conocidos en la técnica e incluyen *Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus subtilis*, *Streptococcus cremoris* y *Streptococcus lividans*. En algunos casos, las construcciones polipeptídicas que comprenden variantes del dominio Fc se producen en células de insecto tales como, pero sin limitarse a, células Sf9 y Sf21 o células de levadura tales como, entre otras, organismos de los géneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Hansenula* y *Yarrowia*. En algunos casos, las construcciones polipeptídicas que comprenden variantes del dominio Fc se expresan *in vitro* usando sistemas de traducción libres de células. Los sistemas de traducción *in vitro* derivados de células procariotas (*por ejemplo*, *E. coli*) y eucariotas (*por ejemplo*, germen de trigo, reticulocitos de conejo) están disponibles y, en algunas realizaciones, se eligen basándose en los niveles de expresión y propiedades funcionales de la proteína de interés. Por ejemplo, como apreciarán los expertos en la técnica, se requiere traducción *in vitro* para algunas tecnologías de presentación, por ejemplo, presentación de ribosomas. Además, en algunas realizaciones, las variantes del dominio Fc se producen mediante métodos de síntesis química tales como, pero sin limitación, síntesis de péptidos en fase líquida y síntesis de péptidos en fase sólida. En el caso de la transcripción *in vitro* utilizando un sistema no glicosilante, como extractos bacterianos, el Fc no se glicosilará incluso en presencia del sitio de glicosilación natural y, por lo tanto, se obtendrá de manera equivalente la inactivación del Fc.

[0247] En algunas realizaciones, una construcción polipeptídica incluye aminoácidos no naturales, análogos de aminoácidos, miméticos de aminoácidos o cualquier combinación de estos que funcionan de una manera similar a los aminoácidos naturales. Los aminoácidos codificados naturalmente generalmente se refieren a los 20 aminoácidos comunes (alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina) y pirrolisina y selenocisteína. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido natural, por ejemplo, un carbono que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, como homoserina, norleucina, metionina sulfóxido, metionina metil sulfonio.

En algunas realizaciones, tales análogos tienen grupos R modificados (tales como norleucina) o cadenas principales de péptidos modificados pero generalmente retienen la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural.

Producción, recuperación y purificación de proteínas

5 **[0248]** En algunas realizaciones, las células hospedadoras utilizadas para producir polipéptidos de la divulgación se cultivan en medios adecuados para el cultivo de las células hospedadoras seleccionadas. Ejemplos de medios adecuados para células hospedadoras de mamíferos incluyen medio esencial mínimo (MEM), medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), medio de expresión Expi293™, DMEM con suero bovino fetal suplementado (FBS) y RPMI-1640. Los ejemplos de medios
10 adecuados para células hospedadoras bacterianas incluyen caldo Luria (LB) más los suplementos necesarios, tales como un agente de selección, por ejemplo, ampicilina. En algunas realizaciones, las células hospedadoras se cultivan a temperaturas adecuadas, tales como de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 39 °C, por ejemplo, de aproximadamente 25 °C a aproximadamente 37 °C, preferiblemente 37 °C, y niveles de CO₂, tales como aproximadamente 5 % a 10 %. En algunas
15 realizaciones, el pH del medio es de aproximadamente pH 6,8 a pH 7,4, *por ejemplo*, pH 7,0, dependiendo principalmente del organismo huésped. Si se utiliza un promotor inducible en el vector de expresión, la expresión de proteína se puede inducir en condiciones adecuadas para la activación del promotor.

[0249] En algunas realizaciones, la recuperación de proteínas implica alterar la célula hospedadora,
20 por ejemplo mediante choque osmótico, sonicación o lisis. Una vez que las células se rompen, los restos celulares se eliminan mediante centrifugación o filtración. Las proteínas pueden luego purificarse más. En algunas realizaciones, un polipéptido de la divulgación se purifica mediante varios métodos de purificación de proteínas, por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de afinidad y cromatografía en columna de exclusión por tamaño),
25 centrifugación, solubilidad diferencial o por cualquier otra técnica estándar para la purificación de proteínas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la proteína se aísla y se purifica seleccionando y combinando apropiadamente columnas de afinidad como la columna de Proteína A (por ejemplo, cromatografía de proteína A POROS) con columnas de cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio catiónico POROS HS-50), procedimientos de filtración, ultrafiltración, desalación y diálisis.
30 En algunas realizaciones, un polipéptido se conjuga con secuencias marcadoras, como un péptido, para facilitar la purificación. Un ejemplo de una secuencia de aminoácidos marcadora es un péptido de hexahistidina (etiqueta His6 (SEQ ID NO: 223)), que puede unirse a una columna de afinidad de agarosa funcionalizada con níquel con afinidad micromolar. Como alternativa, se puede usar una

etiqueta de hemaglutinina «HA», que corresponde a un epítipo derivado de la proteína hemaglutinina de la influenza.

[0250] En algunas realizaciones, los polipéptidos de la divulgación, por ejemplo, una construcción polipeptídica que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (por ejemplo, cualquier variante proporcionada en las Tablas 2, 5 y 6) y un compañero de fusión tal como una variante Fc son producidos por las células de un sujeto (p. ej., un ser humano), p. ej., en el contexto de la terapia génica, mediante la administración de un vector como un vector viral (p. ej., un vector retroviral, vector adenoviral, vector poxviral (p. ej., vector viral de vaccinia, como Vaccinia Ankara modificada (MVA)), vector viral adenoasociado y vector alfaviral) que contiene una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido de la divulgación. El vector, una vez dentro de una célula del sujeto (por ejemplo, por transformación, transfección, electroporación, precipitación con fosfato cálcico, microinyección directa, infección, etc.) puede usarse para la expresión de un polipéptido divulgado en este documento. En algunos casos, el polipéptido se secreta desde la célula. En algunas realizaciones, si el resultado deseado es el tratamiento de una enfermedad o trastorno, no se requiere ninguna acción adicional. En algunas realizaciones, si se desea la recolección de la proteína, se recolecta sangre del sujeto y la proteína se purifica de la sangre mediante varios métodos.

Métodos de tratamiento del cáncer

[0251] En este documento se proporciona un método para tratar el cáncer en un individuo (por ejemplo, un individuo humano) que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (por ejemplo, una variante del dominio SIRP α D1 descrita en el presente documento). y una variante del dominio Fc (por ejemplo, una variante del dominio Fc descrita en el presente documento) y (b) un anticuerpo terapéutico.

Cáncer de pulmón

[0252] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el cáncer de pulmón (p. ej., cáncer de pulmón de células no pequeñas o «NSCLC»), en un individuo (p. ej., un ser humano) que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (p. ej., una variante del dominio SIRP α D1 descrita en este documento) y una variante del dominio Fc (p. ej., una variante del dominio Fc descrita en este documento) y (b) un anticuerpo terapéutico que interrumpe la interacción entre PD-1 y PD-L1, donde el individuo progresó (por ejemplo, demostró progresión de la enfermedad) mientras estaba en (o seguía) una terapia previa para el cáncer de pulmón (por ejemplo, NSCLC). En algunas realizaciones, la terapia previa era la terapia con inhibidores de puntos de control inmunitarios (CPI).

Adicional o alternatively, en algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación de proporción de tumor PD-L1 (TPS) de menos del 50 %. En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido terapia de CPI previa. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio Fc que es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 o SEQ ID NO: 135. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) forma un homodímero. En algunas realizaciones, el anticuerpo terapéutico que bloquea la interacción entre PD-1 y PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab.

[0253] En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo (por ejemplo, por infusión IV) a una dosis de aproximadamente 200 mg cada tres semanas (Q3W). En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo hasta por 24 meses. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo durante al menos 24 horas. En algunas realizaciones, las modificaciones de la dosis de pembrolizumab se realizan de acuerdo con el prospecto local del paquete. Puede encontrar información completa sobre la preparación, dispensación, dosis y programa de administración de pembrolizumab en el prospecto local (para los Estados Unidos, consulte, por ejemplo, [www\(dot\)accessdata\(dot\)fda\(dot\)gov/drugsatfda_docs/label/2016/125514s012lbl\(dot\)pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/125514s012lbl.pdf); para Europa, consulte, p. ej.,

epar-product-information_en(dot)pdf). En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p.ej., por infusión intravenosa) al individuo semanalmente (es decir, una vez cada 7 días o «qw»), p. ej., a una dosis de 10,0 mg/kg.

[0254] En algunas realizaciones, el cáncer de pulmón es NSCLC. En algunas realizaciones, el NSCLC es NSCLC localmente avanzado. En algunas realizaciones, el NSCLC es NSCLC metastásico. En algunas realizaciones, el individuo tiene NSCLC metastásico y no ha demostrado progresión de la enfermedad dentro de las 8 semanas posteriores al inicio de una terapia previa con un inhibidor de PD-1 o PD-L1. En algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación de proporción de tumor PD-L1 (TPS) de ≥ 1 %. En algunas realizaciones, el individuo tiene NSCLC localmente avanzado o metastásico con una puntuación de TPS <50 %. En algunas realizaciones, el individuo progresó después de la terapia sistémica para su enfermedad metastásica. En algunas realizaciones, el individuo tiene NSCLC localmente avanzado o metastásico con una puntuación de TPS ≥ 1 %, y el individuo progresó con la terapia previa con inhibidores de puntos de control (CPI) para NSCLC.

[0255] En algunas realizaciones, la terapia CPI previa para el cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC) donde progresó el individuo fue una terapia que comprendía el tratamiento con nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, avelumab, durvalumab, cemiplimab, tislelizumab (también conocido como BGB-A317), toripalimab, sintilimab, camrelizumab (también conocido como SHR-1210 o INCSHR-1210), espatalizumab (también conocido como PDR001), TSR-042 y/o FAZ053. En algunas realizaciones, se considera que el individuo ha progresado con la terapia de CPI previa para el cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC) si el individuo demostró enfermedad progresiva (PD), p. ej., según lo evaluado por los criterios de Evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) (por ejemplo, versión 1.0 o 1.1) o criterios RECIST modificados (ver, por ejemplo, Therasse *et ál.* (2000) *J. Natl Cancer Inst.* 92: 205-216; Eisenhauer *et ál.* (2009) *Eur J. Cancer.* 45: 229-247; y Jang *et ál.* (2013) *Chin J. Cancer Res.* 25 (6): 689-694), criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (ver, por ejemplo, WHO. Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. Ginebra: Publicación en offset de la Organización Mundial de la Salud; 1979. p. 48; y Miller *et ál.* (1981) *Cancer.* 47: 207-214), o cualquier conjunto de criterios de respuesta descritos en Hwang *et ál.* (2017) «Response Evaluation of Chemotherapy for Lung Cancer. » *Tuberc Respir Dis (Seúl)*. 80(2): 136-142 y referencias allí citadas. En algunas realizaciones, el individuo es resistente a la terapia estándar (por ejemplo, terapia curativa) para el cáncer de pulmón (por ejemplo, NSCLC). En algunas realizaciones, no existe una terapia estándar (por ejemplo, terapia curativa) disponible para tratar el cáncer de pulmón (por ejemplo, NSCLC).

[0256] En algunas realizaciones, la puntuación de proporción tumoral (TPS) de PD-L1 del individuo se evalúa usando un ensayo de inmunohistoquímica de diagnóstico (IHC) *in vitro* para la detección de PD-L1 en secciones de tejido humano fijadas con formalina e incrustadas en parafina (FFPE). En algunas realizaciones, el ensayo IHC es PD-L1 IHC 22C3 Pharm Dx. PD-L1 IHC 22C3 Pharm Dx es un ensayo inmunohistoquímico cualitativo donde se utiliza un anticuerpo anti-PD-L1 monoclonal murino (clon 22C3) para detectar PD-L1 (es decir, PD-L1 humano) en tejido de cáncer de pulmón fijado con formalina e incrustado en parafina (FFPE) (p. ej., tejido de NSCLC) obtenido de un individuo (p. ej., paciente) en el sistema de tinción automatizado DAKO™ AUTOSTAINER LINK 48 utilizando el sistema de visualización ENVISION™ FLEX. En algunas realizaciones, TPS es una medida de la expresión de la proteína PD-L1 en la muestra de tejido de cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC) del individuo (p. ej., paciente). En algunas realizaciones, TPS es el porcentaje de células tumorales viables que muestran tinción de membrana parcial o completa a cualquier intensidad. La muestra debe considerarse positiva para PD-L1 si $TPS \geq 50\%$ de las células tumorales viables exhiben tinción de la membrana a cualquier intensidad. En algunas realizaciones, las células inmunes asociadas a tumores (tales como linfocitos o macrófagos infiltrantes) no se incluyen en la puntuación para la determinación de TPS. En algunas realizaciones, el marcaje de la muestra de cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC) lo realiza un patólogo. En algunas realizaciones, la tinción se evalúa mediante un microscopio óptico con un aumento de 10x-40x. Se proporcionan más detalles sobre el ensayo PD-L1 IHC 22C3 Pharm Dx, los reactivos y el equipo para realizar el ensayo, la interpretación de los resultados del ensayo y la puntuación de TPS en [www\(dot\)accessdata\(dot\)fda\(dot\)gov/cdrh_docs/pdf15/p150013b\(dot\)pdf](http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf15/p150013b.pdf) and Reck *et al.* (2016) «Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. » *NEJM*. 375: 1823-1833.

Cáncer de cabeza y cuello

[0257] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el cáncer de cabeza y cuello (p. ej., carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello o «HNSC»), en un individuo (p. ej., un ser humano) que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRPα D1 (p. ej., una variante del dominio SIRPα D1 descrita en este documento) y una variante del dominio Fc (p. ej., una variante del dominio Fc descrita en este documento) y (b) un anticuerpo terapéutico que interrumpe la interacción entre PD-1 y PD-L1, donde el individuo progresó (por ejemplo, demostró progresión de la enfermedad) mientras estaba en terapia previa o después de una terapia previa para el cáncer de cabeza y cuello (por ejemplo, HNSCC). En algunas realizaciones, la terapia previa era una terapia que contenía platino. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) comprende una variante del

dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio Fc que es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 o SEQ ID NO: 135. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) forma un homodímero. En algunas realizaciones, el anticuerpo terapéutico que bloquea la interacción entre PD-1 y PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. En algunas realizaciones, el HNSCC es negativo para PD-L1. En algunas realizaciones, el HNSCC es positivo para PD-L1. Se proporcionan más detalles sobre «negativo para PD-L1» y «positivo para PD-L1» en otra parte de este documento.

[0258] En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo (por ejemplo, por infusión IV) a una dosis de aproximadamente 200 mg cada tres semanas (Q3W). En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo hasta por 24 meses. En algunas realizaciones, el pembrolizumab se administra al individuo por al menos 24 meses. En algunas realizaciones, las modificaciones de la dosis de pembrolizumab se realizan de acuerdo con el prospecto local del paquete. Puede encontrar información completa sobre la preparación, dispensación, dosis y programa de administración de pembrolizumab en el prospecto local (para los Estados Unidos, consulte, por ejemplo, [www\(dot\)accessdata\(dot\)fda\(dot\)gov/drugsatfda_docs/label/2016/125514s012lbl\(dot\)pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/125514s012lbl.pdf); para Europa, consulte, p. ej.,

epar-product-information_en(dot)pdf). En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p.ej., por infusión intravenosa) al individuo semanalmente (es decir, una vez cada 7 días o «qw»), p. ej., a una dosis de 10,0 mg/kg.

[0259] En algunas realizaciones, el individuo tiene HNSCC recurrente. En algunas realizaciones, el HNSCC es HNSCC metastásico. En algunas realizaciones, el individuo recibió terapia previa con un inhibidor del punto de control inmunitario («CPI»), es decir, el individuo es un individuo «experimentado en CPI». En algunas realizaciones, el individuo tiene HNSCC recurrente o metastásico y no ha demostrado progresión de la enfermedad dentro de las 8 semanas posteriores al inicio de una terapia previa con un CPI. En algunas realizaciones, la terapia previa con un CPI era o comprendía un inhibidor de PD-1 o PD-L1. En algunas realizaciones, la terapia previa con un CPI era o comprendía el tratamiento con nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, avelumab, durvalumab, cemiplimab, tislelizumab (también conocido como BGB-A317), toripalimab, sintilimab, camrelizumab (también conocido como SHR-1210 o INCSHR-1210), espartalizumab (también conocido como PDR001), TSR-042 y/o FAZ053. En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido terapia previa con un CPI (por ejemplo, el individuo es «sin terapia con inhibidores de puntos de control inmunológico» o «sin terapia con CPI»).

[0260] En algunas realizaciones, la terapia previa que contenía platino donde progresó el individuo o después de la cual progresó fue una terapia que comprendía tratamiento con carboplatino, cisplatino, oxaliplatino, nedaplatino, tetranitrato de triplatino, fenantriplatino, picoplatino y/o satraplatino. En algunas realizaciones, se considera que el individuo ha progresado con, o después de, la terapia previa que contiene platino para el cáncer de cabeza y cuello (p. ej., HNSCC) si el individuo demostró enfermedad progresiva (PD), p. ej., según lo evaluado por los criterios de Evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) (por ejemplo, versión 1.0 o 1.1) o criterios RECIST modificados (ver, por ejemplo, Therasse *et ál.* (2000) *J. Natl Cancer Inst.* 92: 205-216; Eisenhauer *et ál.* (2009) *Eur J. Cancer.* 45: 229-247; y Jang *et ál.* (2013) *Chin J. Cancer Res.* 25 (6): 689-694), criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (ver, por ejemplo, WHO. Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. Ginebra: Publicación en offset de la Organización Mundial de la Salud; 1979. p. 48; y Miller *et ál.* (1981) *Cancer.* 47: 207-214), o un conjunto de criterios de respuesta descritos en Wray *et ál.* (2016) «Therapy Response Assessment and Patient Outcomes in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: FDG PET Hopkins Criteria Versus Residual Neck Node Size and Morphologic Features. » *Am J. Roentgenology.* 207:641-647. En algunas realizaciones, el individuo es resistente a la terapia estándar (por ejemplo, terapia curativa) para el cáncer de cabeza y cuello (por ejemplo, HNSCC). En

algunas realizaciones, no existe una terapia estándar (por ejemplo, terapia curativa) disponible para tratar el cáncer de cabeza y cuello (por ejemplo, HNSCC).

Cáncer gástrico/gastroesofágico (GEJ)

[0261] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el cáncer gástrico/gastroesofágico (GEJ) (p. ej., adenocarcinoma gástrico o GEJ positivo para HER2) en un individuo (p. ej., un individuo humano) que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (p. ej., una variante del dominio SIRP α D1 descrita en este documento) y una variante del dominio Fc (p. ej., una variante del dominio Fc descrita en este documento) y (b) un anticuerpo anti-HER2 terapéutico, donde el individuo progresó (p. ej., demostró progresión de la enfermedad) durante una terapia previa o después de una terapia previa para el cáncer gástrico/GEJ (p. ej., adenocarcinoma gástrico/GEJ) y donde la terapia previa fue una terapia con anticuerpos anti-HER2 y/o una terapia a base de fluoropirimidina. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio Fc que es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 o SEQ ID NO: 135. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) forma un homodímero. En algunas realizaciones, el anticuerpo terapéutico anti-HER2 que se administra al individuo en combinación con el polipéptido de fusión es trastuzumab.

[0262] En algunas realizaciones, el trastuzumab se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el trastuzumab se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el trastuzumab se administra de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. En algunas realizaciones, el trastuzumab se administra al individuo (p. ej., por infusión intravenosa) cada tres semanas (Q3W).

En algunas realizaciones, la dosis inicial (es decir, la primera) de trastuzumab es de aproximadamente 8 mg/kg, y cada dosis posterior (es decir, después de la primera dosis) es de aproximadamente 6 mg/kg. En algunas realizaciones, las modificaciones de la dosis de trastuzumab se realizan de acuerdo con el prospecto local del paquete. Puede encontrar información completa sobre la preparación, dispensación, dosis y programa de administración de trastuzumab en el prospecto local (para los Estados Unidos, consulte, por ejemplo, [www.accessdata\(dot\)fda\(dot\)gov/drugsatfda_docs/label/2017/103792s5337lbl\(dot\) pdf](http://www.accessdata(fda(dot)gov/drugsatfda_docs/label/2017/103792s5337lbl(dot)pdf); para Europa, vea, por ejemplo, [www\(dot\)ema\(dot\)Europa\(dot\)eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_en\(dot\)pdf](http://www(dot)ema(dot)Europa(dot)eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_en(dot)pdf)). En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p. ej., por infusión intravenosa) al individuo semanalmente (es decir, una vez cada 7 días o «qw»), p. ej., a una dosis de 10,0 mg/kg.

[0263] En algunas realizaciones, el estado de HER2 (es decir, el estado positivo para HER2 o el estado negativo para HER2) del cáncer gástrico o GEJ se evalúa mediante inmunohistoquímica (IHC) o hibridación in situ (ISH, por ejemplo, ISH fluorescente o «FISH»). En algunas realizaciones, el estado de HER2 del cáncer gástrico o GEJ se evalúa de acuerdo con los criterios descritos en Abrahao-Machado *et ál.* (2016) *World J. Gastroenterol.* 22(19): 4619-4625 y las referencias allí citadas. En algunas realizaciones, el cáncer gástrico positivo para HER2 o GEJ positivo para HER2 es un adenocarcinoma gástrico positivo para HER2/GEJ positivo para HER2. En algunas realizaciones, el cáncer gástrico positivo para HER2/GEJ positivo para HER2 (p. ej., adenocarcinoma) es cáncer gástrico/GEJ metastásico (p. ej., adenocarcinoma metastásico). En algunas realizaciones, el individuo tiene cáncer gástrico/GEJ metastásico (p. ej., adenocarcinoma) y ha demostrado una respuesta de enfermedad al menos estable (SD) (es decir, una respuesta mejor que la enfermedad progresiva (PD)) como la mejor respuesta a una terapia previa.

[0264] En algunas realizaciones, el individuo progresó (por ejemplo, demostró progresión de la enfermedad) durante la terapia previa o después de la terapia previa con un anticuerpo anti-HER2. En algunas realizaciones, la terapia previa con anticuerpo anti-HER2 comprendía el tratamiento con trastuzumab, pertuzumab y/o margetuximab. Adicional o alternativamente, en algunas realizaciones, el individuo progresó (por ejemplo, demostró progresión de la enfermedad) durante la terapia previa o después de la terapia previa con una terapia basada en fluoropirimidina. En algunas realizaciones, la

terapia previa basada en fluoropirimidina comprendía el tratamiento con, por ejemplo, capecitabina, floxuridina, 4-fluorouracilo, 5-fluorouracilo, carmofur, doxifluridina, ftorafur (Tegafur), UFT (es decir, una combinación molar 1: 4 de ftorafur con uracilo), S-1 (una combinación de ftorafur, gimeracilo y oteracilo) y/o FOLFOX (una combinación de ácido folínico, 5-fluorouracilo y oxaliplatino). En algunas realizaciones, el individuo progresó durante la terapia o después de la terapia con un anticuerpo anti-HER2 y una terapia basada en fluoropirimidina. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-HER2 y la terapia basada en fluoropirimidina se administraron en combinación (p. ej., donde ambos agentes eran parte de un régimen de tratamiento único). En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-HER2 y la terapia basada en fluoropirimidina se administraron cada uno en regímenes de tratamiento separados (por ejemplo, en dos terapias previas separadas o dos líneas de terapia previa separadas).

[0265] En algunas realizaciones, se considera que el individuo ha progresado con la terapia de anti-HER2 previa y/o la terapia basada en fluoropirimidina previa para el cáncer gástrico/GEJ (p. ej., cáncer gástrico/GEJ positivo para HER2) si el individuo demostró enfermedad progresiva (PD), p. ej., según lo evaluado por los criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) (por ejemplo, versión 1.0 o 1.1) o criterios RECIST modificados (ver, por ejemplo, Therasse *et ál.* (2000) *J. Natl Cancer Inst.* 92: 205-216; Eisenhauer *et ál.* (2009) *Eur J. Cancer.* 45: 229-247; y Jang *et ál.* (2013) *Chin J. Cancer Res.* 25 (6): 689-694), criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (ver, por ejemplo, WHO. Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment. Ginebra: Publicación en offset de la Organización Mundial de la Salud; 1979. p. 48; y Miller *et ál.* (1981) *Cancer.* 47: 207-214), o cualquier conjunto de criterios de respuesta descritos en Kurokawa *et ál.* (2013) *Ann Surg Oncol.* 20(9): 3009-3014; Yanagawa *et ál.* (2012) *J Nucl Med.* 53(6): 872-880; Lordick *et ál.* (2016) *Ann Oncol.* 27 (supl. 5): v50-v57; o Kim *et ál.* (2015) *Oncología.* 88:69-75. En algunas realizaciones, el individuo es resistente a la terapia estándar (p. ej., terapia curativa) para el cáncer gástrico/GEJ (p. ej., cáncer gástrico positivo para HER2/GEJ positivo para HER2). En algunas realizaciones, no existe una terapia estándar (por ejemplo, terapia curativa) disponible para tratar el cáncer gástrico/GEJ (por ejemplo, cáncer gástrico positivo para HER2/GEJ positivo para HER2).

Linfomas

(i) Linfoma no Hodgkin agresivo

[0266] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar linfoma no Hodgkin agresivo o «NHL» (por ejemplo, linfoma difuso de células B grandes («DLBCL», por ejemplo, DLBCL *de novo* o DLBCL transformado o linfoma de células del manto (MCL)) en un individuo (p. ej., un ser humano) que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRPα D1 (p. ej., una variante del dominio SIRPα D1

descrita en este documento) y una variante de dominio Fc (p. ej., una variante de dominio Fc descrita en este documento) y (b) un anticuerpo anti-CD20 terapéutico, donde el NHL agresivo es un NHL agresivo recidivante y/o refractario (p. ej., donde el individuo ha recaído durante o después de un tratamiento previo para NHL agresivo y/o ha sido refractario a un tratamiento previo para el NHL agresivo) y donde no hay una terapia disponible (p. ej., terapia curativa) para el NHL agresivo (p.ej., DLBCL, como DLBCL *de novo*, DLBCL transformado o linfoma de células del manto). En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) comprende una variante del dominio SIRPα D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio SIRPα D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio Fc que es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 o SEQ ID NO: 135. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) forma un homodímero. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 terapéutico es rituximab. En algunas realizaciones, el NHL agresivo es linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), por ejemplo, DLBCL *de novo* o DLBCL transformado. En algunas realizaciones, el NHL agresivo es un linfoma de células del manto (MCL).

[0267] En algunas realizaciones, el rituximab se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el rituximab se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el rituximab se administra de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. En algunas realizaciones, el rituximab se administra al individuo (p. ej., por infusión intravenosa) a una dosis de aproximadamente 375 mg/m². En algunas realizaciones, las primeras cuatro dosis (es decir, dosis 1-4) de rituximab se administran al individuo (p. ej., a una dosis de aproximadamente 375 mg/m²) una vez a la semana (p. ej., una vez cada 7 días o «qw») durante las primeras cuatro semanas (p. ej., 28 días) de tratamiento, y las

siguientes ocho dosis (es decir, dosis 5-12) se administran al individuo una vez cada cuatro semanas (p. ej., cada 28 días o «q4w»). En algunas realizaciones, las primeras cuatro dosis (es decir, dosis 1-4) de rituximab se administran al individuo (p. ej., a una dosis de aproximadamente 375 mg/m²) una vez a la semana (p. ej., una vez cada 7 días o «qw») durante las primeras cuatro semanas (p. ej., 28 días) de tratamiento, y las siguientes cuatro dosis (es decir, dosis 5-8) se administran al individuo una vez cada cuatro semanas (p. ej., cada 28 días o «q4w»). En algunas realizaciones, las modificaciones de la dosis de rituximab se realizan de acuerdo con el prospecto local del paquete. Puede encontrar información completa sobre la preparación, dispensación, dosis y programa de administración de rituximab en el prospecto local (para los Estados Unidos, consulte, por ejemplo, [www\(dot\)accessdata\(dot\)fda\(dot\)gov/drugsatfda_docs/label/2012/103705s5367s5388lbl\(dot\)pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/103705s5367s5388lbl.pdf); para Europa, ver, p. ej., [www\(dot\)ema\(dot\)europa\(dot\)eu/en/documents/product-information/mabthera-epar-product-information_en\(dot\)pdf](http://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mabthera-epar-product-information_en.pdf)). En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p. ej., por infusión intravenosa) al individuo semanalmente (es decir, una vez cada 7 días o «qw»), p. ej., a una dosis de 10,0 mg/kg o 15,0 mg/kg.

[0268] En algunas realizaciones, se diagnostica que el individuo tiene DLBCL *de novo* (por ejemplo, DLBCL *de novo* recidivante y/o refractario) si el individuo no tenía antecedentes previos de linfoma. En algunas realizaciones, se diagnostica que el individuo tiene DLBCL transformado si tiene antecedentes de linfoma, por ejemplo, linfoma indolente, como linfoma de zona marginal, linfoma linfoplasmocítico, linfoma linfocítico pequeño/leucemia linfocítica crónica, linfoma folicular o linfoma de Hodgkin predominante de linfocitos. En algunas realizaciones, se diagnostica que el individuo tiene linfoma de células del manto (MCL) si se encuentra que el individuo tiene una o más de las siguientes anomalías cromosómicas: t(11;14), t(14;18). En algunas realizaciones, al individuo se le diagnostica linfoma de células del manto (MCL) si se detecta una sobreexpresión de SOX11 en una muestra de células leucémicas del individuo. Otros criterios para diagnosticar DLBCL *de novo*, DLBCL transformado y MCL son conocidos en la técnica y los expertos en la materia los utilizan de forma rutinaria. Ver, por ejemplo, Balsas et ál. (2017) Blood. 130(4):501-513; National Guideline Alliance (Reino Unido). Linfoma no Hodgkin: diagnóstico y tratamiento. Londres: Instituto Nacional de Excelencia en Salud y Atención (Reino Unido); 2016 julio (Directriz NICE, No. 52.) 3, Staging; Dreyling et ál. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2014:191-8; y otros.

[0269] En algunas realizaciones, se considera que el individuo ha recaído después de una terapia previa para el NHL agresivo (por ejemplo, DLBCL *de novo*, DLBCL transformado o MCL) si el individuo logró una respuesta terapéutica de enfermedad al menos estable (SD) a la terapia previa, pero dejó de responder (p. ej., demostró progresión de la enfermedad) en aproximadamente uno de, p. ej., 1, 2, 3,

4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 meses después del cese de la terapia previa. En algunas realizaciones, se considera que el individuo es refractario a una terapia previa para el NHL agresivo si no respondió a la terapia previa (p. je., no logró una respuesta terapéutica de enfermedad al menos estable (SD) durante o después de la terapia previa). En algunas realizaciones, la respuesta terapéutica a una terapia para el NHL agresivo se evalúa de acuerdo con los criterios descritos en Cheson *et ál.* (2014) «Recommendations for Initial Evaluation, Staging and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. » *J. Clin Oncol.* 32: 3059-3067.

[0270] En algunas realizaciones, el individuo era refractario o había recaído después del tratamiento con al menos una terapia previa (por ejemplo, al menos una terapia estándar aprobada previa, al menos dos terapias estándar aprobadas previas, al menos tres terapias estándar aprobadas, etc.) para NHL agresivo. Las terapias estándar para DLBCL (p. ej., DLBCL *de novo* o transformado) y MCL incluyen, pero no se limitan a, p. ej., rituximab, RCHP (es decir, rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina y prednisona); R-CHOP (es decir, rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisona); R-CHOEP (es decir, rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, etopósido y prednisona que se administra típicamente en ciclos de 21 días durante 6 ciclos); EPOCH-R (es decir, rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, etopósido y prednisona que se administra típicamente como una infusión continua durante 4 días); R-GCVP (es decir, rituximab, gemcitabina, ciclofosfamida, vincristina y prednisolona); R-CEPP (es decir, rituximab, ciclofosfamida, etopósido, procarbazona y prednisona); R-CEOP (es decir, rituximab, ciclofosfamida, epirubicina, vincristina y prednisona); R-CVP (es decir, rituximab, ciclofosfamida, vincristina y prednisona); rituximab y bendamustina; rituximab y lenalidomida; DHAP (es decir, dexametasona, citarabina y cisplatino en dosis altas); RDHAP (es decir, DHAP en combinación con rituximab); ICE (es decir, ifosfamida, carboplatino y etopósido); RICE (es decir, ICE en combinación con rituximab); DICE (es decir, ICE en combinación con dexametasona); DICE y mesna; BEAM (es decir, carmustina, etopósido, citarabina y melfalán); R-BEAM (es decir, BEAM en combinación con rituximab); ESHAP (es decir, etopósido, solumedrol, citarabina en dosis altas y cisplatino); R-ESHAP (es decir, ESHAP en combinación con rituximab); MIME (es decir, metil-glioxal-bis(guanilhidrazona), ifosfamida, metotrexato y etopósido); parsaclisib (también conocido como INCB050465); MATRIZ (es decir, metotrexato, citarabina, tiotepa y rituximab); hiper-CVAD o HCVAD (es decir, ciclofosfamida hiperfraccionada, vincristina, doxorubicina y dexametasona) RHCVAD (es decir, HCVAD en combinación con rituximab); RHCVAD / MA (es decir, RHCVAD alternando con metotrexato y citarabina); DHAP (es decir, dexametasona, cisplatino y citarabina); R-DHAP (es decir, DHAP en combinación con rituximab); ibrutinib; rituximab, obinituzumab, CVAD (es decir, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona); RCVAD (es decir, CVAD en combinación con rituximab); GemOx (es decir, gemcitabina y oxaliplatino); R-GemOx (es decir, GemOx

en combinación con rituximab); DHAX (es decir, dexametasona, citarabina y oxaliplatino); R-DHAX (es decir, DHAX en combinación con rituximab); GIFOX (es decir, gemcitabina, ifosfamida y oxaliplatino); RGIFOX (es decir, GIFOX en combinación con rituximab); bortezomib y GIFOX; ASCT (es decir, trasplante autólogo de células madre) HD-ASCT (es decir, ASCT en combinación con terapia de dosis alta, p. ej., quimioterapia de dosis alta); terapia de células T con CAR (p. ej., tisagenlecleucel o axicabtagene); brentuximab vedotin y lenalidomida. En algunas realizaciones, la terapia previa para el NHL agresivo comprendía dos o más de los tratamientos anteriores (administrados juntos en un solo régimen de tratamiento o administrados en regímenes de tratamiento separados). En algunas realizaciones, no hay opciones de tratamiento disponibles (por ejemplo, opciones de tratamiento curativo) para el individuo con NHL agresivo (por ejemplo, NHL agresivo recidivante/refractario). En algunas realizaciones, el individuo tiene DLBCL (p. ej., DLBCL *de novo* o DLBCL transformado) o MCL para el que no se dispone de terapia curativa. En algunas realizaciones, el individuo tiene DLBCL (por ejemplo, DLBCL *de novo* o DLBCL transformado) o MCL que ha recaído después o ha sido refractario a terapias estándar aprobadas (por ejemplo, terapias curativas).

(ii) Linfoma indolente

[0271] En algunas realizaciones, se proporciona un método para tratar el linfoma indolente en un individuo (p. ej., un individuo humano) que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de (a) un polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) que comprende una variante del dominio SIRP α D1 (p. ej., una variante del dominio SIRP α D1 descrita en este documento) y una variante del dominio Fc (p. ej., una variante del dominio Fc descrita en este documento) y (b) un anticuerpo anti-CD20 terapéutico, donde el linfoma indolente es linfoma indolente recidivante y/o refractario (p. ej., donde el individuo ha recaído durante o después de al menos un tratamiento previo, por ejemplo, una terapia estándar aprobada, para linfoma indolente y/o ha sido refractario a al menos un tratamiento previo, por ejemplo, una terapia estándar aprobada, para linfoma indolente. En algunas realizaciones, el individuo ha recaído durante o después de más de una terapia estándar aprobada (por ejemplo, 2, 3 o más terapias estándar) para el linfoma indolente y/o es refractario a más de una terapia estándar (por ejemplo, 2, 3, o más terapias estándar, p. ej., terapias curativas) para linfoma indolente. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y

delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio SIRP α D1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende una variante del dominio Fc que es una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) administrado al individuo comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 o SEQ ID NO: 135. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) forma un homodímero. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 terapéutico es rituximab.

[0272] En algunas realizaciones, el rituximab se administra por vía subcutánea. En algunas realizaciones, el rituximab se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el rituximab se administra de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta. En algunas realizaciones, el rituximab se administra al individuo (p. ej., por infusión intravenosa) a una dosis de aproximadamente 375 mg/m². En algunas realizaciones, las primeras cuatro dosis (es decir, dosis 1-4) de rituximab se administran al individuo (p. ej., a una dosis de aproximadamente 375 mg/m²) una vez a la semana (p. ej., una vez cada 7 días o «qw») durante las primeras cuatro semanas (p. ej., 28 días) de tratamiento, y las siguientes ocho dosis (es decir, dosis 5-12) se administran al individuo una vez cada cuatro semanas (p. ej., cada 28 días o «q4w»). En algunas realizaciones, las primeras cuatro dosis (es decir, dosis 1-4) de rituximab se administran al individuo (p. ej., a una dosis de aproximadamente 375 mg/m²) una vez a la semana (p. ej., una vez cada 7 días o «qw») durante las primeras cuatro semanas (p. ej., 28 días) de tratamiento, y las siguientes cuatro dosis (es decir, dosis 5-8) se administran al individuo una vez cada cuatro semanas (p. ej., cada 28 días o «q4w»). En algunas realizaciones, las modificaciones de la dosis de rituximab se realizan de acuerdo con el prospecto local del paquete. Puede encontrar información completa sobre la preparación, dispensación, dosis y programa de administración de rituximab en el prospecto local (para los Estados Unidos, consulte, por ejemplo, [www\(dot\)accessdata\(dot\)fda\(dot\)gov/drugsatfda_docs/label/2012/103705s5367s5388lbl\(dot\)pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/103705s5367s5388lbl.pdf); para Europa, ver, p. ej., [www\(dot\)ema\(dot\)europa\(dot\)eu/en/documents/product-information/mabthera-epar-product-information_en\(dot\)pdf](http://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/mabthera-epar-product-information_en.pdf)). En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p. ej., por infusión intravenosa) al individuo semanalmente (es decir, una vez cada 7 días o «qw»), p. ej., a una dosis de 10,0 mg/kg o 15,0 mg/kg.

[0273] En algunas realizaciones, el linfoma indolente es un linfoma no Hodgkin (NHL) indolente. En algunas realizaciones, el NHL indolente es linfoma de zona marginal (MZL). En algunas realizaciones, el NHL indolente es linfoma folicular (FL). Los detalles sobre el diagnóstico y la clasificación del linfoma de zona marginal y el linfoma folicular (así como el DLBCL y el linfoma de células del manto) se proporcionan, por ejemplo, en Ayyappan et ál. (2018) *Curr Oncol Rep.* 20 (4): 33; Dreyling et ál. (2013) ESMO Consensus Guidelines: Marginal Cell Lymphoma, Mantle Cell Lymphoma, Peripheral T-cell Lymphoma. » *Ann Oncol.* 24(4): 857-877; Vose, JM (2017) «Mantle cell lymphoma: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management. » *Am J. Hematol.* 92(8): 806-813; Ciobanu et ál. (2013) «Indolent Lymphoma: Diagnosis and Prognosis in Medical Practice. » *Maedica (Buchar)* 8(4) 338-342 y otros.

[0274] En algunas realizaciones, se considera que el individuo ha recaído después de una terapia previa para el linfoma indolente (por ejemplo, NHL indolente) si el individuo logró una respuesta terapéutica de enfermedad al menos estable (SD) a la terapia previa, pero dejó de responder (p. ej., demostró progresión de la enfermedad) en aproximadamente uno de, p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 meses después del cese de la terapia previa. En algunas realizaciones, se considera que el individuo es refractario a una terapia previa para el linfoma indolente (p. ej., NHL indolente) si no respondió a la terapia previa (p. ej., no logró una respuesta terapéutica de enfermedad al menos estable (SD) durante o después de la terapia previa). En algunas realizaciones, la respuesta terapéutica a una terapia para el linfoma indolente (p. ej., NHL indolente) se evalúa de acuerdo con los criterios descritos en Cheson et ál. (2014) «Recommendations for Initial Evaluation, Staging and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. » *J. Clin Oncol.* 32: 3059-3067.

[0275] En algunas realizaciones, el individuo era refractario o había recaído después del tratamiento con al menos una terapia previa (por ejemplo, al menos una terapia estándar aprobada previa, al menos dos terapias estándar aprobadas previas, al menos tres terapias estándar aprobadas, etc.) para linfoma indolente (p. ej., NHL indolente). Las terapias estándar para el linfoma indolente (p. ej., NHL indolente, como linfoma de zona marginal o linfoma folicular) incluyen, entre otras, las terapias estándar para NHL agresivo (p. ej., DLBCL o linfoma de células del manto), que se describen en detalle en otra parte de este documento. Otras terapias estándar para el linfoma indolente (p. ej., NHL indolente) incluyen, pero no se limitan a, p. ej., fludarabina, FR (es decir, fludarabina y rituximab); FCR (es decir, FR en combinación con ciclofosfamida); FCM (es decir, fludarabina, ciclofosfamida, mitoxantrona); FCMR (es decir, FCM en combinación con rituximab); ibritumomab tiuxetan; tositumomab; vorinostat; everolimus; bortezomib; navitoclax (también conocido como ABT-263); terapia de dosis alta (HDT); trasplante autólogo de células madre y trasplante alogénico de células madre. En

algunas realizaciones, la terapia previa para el linfoma indolente (p. ej. NHL indolente) comprendía dos o más de las terapias estándar anteriores (incluidas las terapias para el NHL agresivo, que se describen en otra parte de este documento). En algunas realizaciones, las dos o más terapias estándar para el linfoma indolente (p. ej., NHL indolente) (incluidos los tratamientos estándar para el NHL agresivo) se administraron juntas en un único régimen de tratamiento. En algunas realizaciones, las dos o más terapias estándar para el NHL indolente (incluido el tratamiento estándar para el NHL agresivo) se administraron en regímenes de tratamiento separados. En algunas realizaciones, no hay opciones de tratamiento disponibles (por ejemplo, opciones de tratamiento curativo) para el individuo con linfoma indolente (por ejemplo, NHL indolente) (por ejemplo, NHL indolente recidivante/refractario).

10 **[0276]** En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos de tratamiento proporcionados en este documento, el polipéptido de fusión se suministra para su uso (p. ej., administración intravenosa) en un vial de vidrio transparente Tipo I de 100 mg/5 ml sellado con un tapón de tabique de caucho recubierto de teflón de 20 mm y sello de aluminio. En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión se suministra para su uso (p. ej., administración intravenosa) en un vial de vidrio transparente Tipo I de 15 400 mg/20 ml sellado con un tapón de tabique de caucho recubierto de teflón de 20 mm y un sello de aluminio. En algunas realizaciones, el polipéptido de fusión se almacena en su recipiente original a 2-8°C (36-46°F) hasta su uso (por ejemplo, administración intravenosa).

[0277] En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos de tratamiento descritos en el presente documento, el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión que comprende una variante del dominio SIRPα D1 y una variante del dominio Fc) se administra por vía subcutánea. En algunas 20 realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra por infusión intravenosa. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p. ej., por infusión intravenosa) al individuo (p. ej., un ser humano) a una dosis de 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg, 10,0 mg/kg, 15,0 mg/kg o 30,0 mg/kg, incluido cualquier intervalo entre estos valores. En algunas 25 realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra (p. ej., por infusión intravenosa) al individuo semanalmente (es decir, una vez cada 7 días o «qw»), p. ej., a una dosis de 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg, 10,0 mg/kg, 15,0 mg/kg o 30,0 mg/kg, incluido cualquier intervalo entre estos valores. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra al individuo (p. ej., por infusión intravenosa) semana por medio (es decir, una vez cada 14 días o «q2w» o «QoW»), p. ej., 30 a una dosis de 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg, 3,0 mg/kg, 10,0 mg/kg, 15,0 mg/kg o 30,0 mg/kg, incluido cualquier intervalo entre estos valores. En algunas realizaciones, en los días en que los horarios de dosificación del polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) y el anticuerpo terapéutico (p. ej., el anticuerpo anti-PD1 (pembrolizumab), el anticuerpo anti-HER2 (trastuzumab) o el anticuerpo anti-CD20 (rituximab))

coinciden, el polipéptido y el anticuerpo terapéutico se administran secuencialmente. En algunas realizaciones, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) se administra antes (p. ej., aproximadamente 30 minutos antes) del anticuerpo terapéutico. En algunas realizaciones, en el caso de que se omita una dosis del polipéptido, el anticuerpo terapéutico se administra aproximadamente 24 horas después de la dosis omitida.

[0278] En algunas realizaciones, la respuesta terapéutica de un individuo que tiene NSCLC, HNSCC, cáncer gástrico o cáncer GEJ a un método de tratamiento proporcionado en este documento se evalúa de acuerdo con los criterios RECIST versión 1.1, por ejemplo, como se describe en Therasse *et ál.* (2000) *J. Natl Cancer Inst.* 92: 205-216; Eisenhauer *et ál.* (2009) *Eur J. Cancer.* 45: 229-247, los criterios de respuesta relacionados con la inmunidad derivados de RECIST 1,1 (irRECIST), por ejemplo, adaptado de Nishino, *et ál.* (2013) «Developing a Common Language for Tumor Response to Immunotherapy: Immune-Related Response Criteria Using Unidimensional Measurements. » *Clinical Cancer Research* 19(14):3936–43. En algunas realizaciones, la respuesta terapéutica de un individuo que tiene linfoma agresivo (p. ej., NHL agresivo como DLBCL o MCL) a un método de tratamiento proporcionado en este documento se evalúa según los criterios de Lugano, p. ej., como se describe en Cheson *et ál.* (2014) «Recommendations for Initial Evaluation, Staging and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. » *J. Clin Oncol.* 32: 3059-3067. En algunas realizaciones, la respuesta terapéutica de un individuo que tiene linfoma indolente (por ejemplo, NHL indolente como FL o MZL) a un método de tratamiento proporcionado en este documento se evalúa de acuerdo con los criterios de Lugano (ver Cheson *et ál* 2014).

[0279] En algunas realizaciones, el individuo que recibe tratamiento para HNSCC, NSCLC, cáncer gástrico o cáncer GEJ tiene al menos una lesión medible como se define en los criterios RECIST versión 1.1, por ejemplo, como se describe en Therasse *et ál.* (2000) *J. Natl Cancer Inst.* 92: 205-216; Eisenhauer *et ál.* (2009) *Eur J. Cancer.* 45: 229-247. En algunas realizaciones, el individuo que recibe tratamiento para el linfoma (por ejemplo, linfoma agresivo (como DLBCL o MCL) o linfoma indolente (como FL o MZL) tiene al menos una lesión medible según lo definido por los criterios de Lugano, por ejemplo, como se describe en Cheson *et ál.* al. (2014) «Recommendations for Initial Evaluation, Staging and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. » *J. Clin Oncol.* 32: 3059-3067.

[0280] En algunas realizaciones, el individuo que recibe el tratamiento de acuerdo con un método de la presente tiene una función de la médula ósea, función renal, función hepática y función cardíaca adecuadas. En algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación de estado de rendimiento (PS) del Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) de 0 o 1 (ver, por ejemplo,

www(dot)npcrc(dot)org/files/news/ECOG)_performance_status(dot)pdf). En algunas realizaciones, el individuo no tiene metástasis sintomáticas del sistema nervioso central (CNS) o enfermedad leptomeníngea que requiera esteroides. En algunas realizaciones, el individuo que recibe tratamiento para el cáncer de pulmón de acuerdo con un método de la presente (por ejemplo, NSCLC) no tiene

5 aberraciones tumorales genómicas ALK o EGFR. En algunas realizaciones, un individuo que recibe tratamiento de acuerdo con un método de la presente no tiene antecedentes de neumonitis (no infecciosa) que requieran esteroides o tiene neumonitis actual. En algunas realizaciones, el individuo que recibe tratamiento según un método de la presente no tiene linfoma de alto grado (por ejemplo, linfoma de Burkitts, linfoma linfoblástico o transformación de Richter), leucemia linfocítica crónica o

10 leucemia de células plasmáticas. En algunas realizaciones, el individuo no se ha sometido a quimioterapia de dosis alta que requiera rescate de células madre alogénicas. En algunas realizaciones, el individuo que recibe tratamiento para cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC), cáncer de cabeza y cuello (p. ej., HNSCC) o cáncer gástrico/GEJ (p. ej., adenocarcinoma gástrico/GEJ positivo para HER2) según un método de la presente no ha sido sometido a irradiación previa a > 25 % de la

15 médula ósea. En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido radioterapia dentro de las 2 semanas posteriores al inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido tratamiento previo con ningún agente anti-CD47 o anti-SIRP α . En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido terapia anticancerosa sistémica dentro de las 4 semanas posteriores al inicio del tratamiento (6 semanas para mitomicina C o nitrosoureas). En algunas realizaciones, el individuo no tiene intolerancia

20 o no ha tenido una reacción alérgica o anafiláctica grave a anticuerpos o una o más proteínas terapéuticas infundidas o cualquier excipiente en una o más formulaciones que comprenden la proteína terapéutica. En algunas realizaciones, el individuo no ha interrumpido el tratamiento debido a un evento adverso (EA) relacionado con el sistema inmunológico de Grado 3 o superior de una terapia previa con un agente anti-PD-1, anti-PD-L1 o anti PD-L2 o con un agente que tiene como objetivo modular otro

25 objetivo de células inmunes (p. ej., CTLA-1, OX40, 41BB, etc.). En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido anticuerpos experimentales o vacunas vivas (p. ej., incluidas, entre otras, vacunas para el sarampión, paperas, rubéola, varicela/zóster, fiebre amarilla, rabia, Bacillus Calmette-Guérin (BCG), fiebre tifoidea, y vacunas intranasales contra la influenza). En algunas realizaciones, el individuo no está recibiendo la terapia activa actual para el diagnóstico primario (p. ej., cáncer de pulmón (NSCLC),

30 cáncer de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer gástrico/GEJ (adenocarcinoma gástrico/GEJ positivo para HER2), linfoma agresivo (DLBCL *de novo* o DLBCL transformado o linfoma de células del manto) o linfoma indolente (p. ej., NHL indolente, como linfoma de zona marginal o linfoma folicular). En algunas realizaciones, el individuo no ha recibido una transfusión de producto sanguíneo dentro de los 14 días posteriores al inicio del tratamiento. En algunas realizaciones, el individuo no tiene antecedentes de

trastornos autoinmunitarios activos (que incluyen, entre otros, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, esclerodermia, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Grave, anemia hemolítica autoinmune, trombocitopenia autoinmune) y otras afecciones que comprometen o deterioren el sistema inmunológico (distintas de la hipogammaglobulinemia). En algunas realizaciones, el individuo no tiene una infección bacteriana, fúngica o viral activa, incontrolada, clínicamente significativa, que incluye hepatitis B (HBV), hepatitis C (HCV), virus de inmunodeficiencia humana (VIH) conocido o enfermedad relacionada con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En algunas realizaciones, el individuo no tiene enfermedad de injerto contra huésped activa (GVHD) o no está experimentando terapia de inmunosupresión para GVHD. En algunas realizaciones, el individuo no ha tenido ninguno de los siguientes en los 12 meses anteriores: infarto de miocardio, angina grave/inestable, injerto de derivación de arteria coronaria/periférica, insuficiencia cardíaca congestiva sintomática, accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio, trombosis venosa profunda o embolia pulmonar sintomática. En algunas realizaciones, el individuo no ha sido diagnosticado con ninguna otra neoplasia maligna en los últimos 3 años antes del inicio del tratamiento, excepto, por ejemplo, cáncer de piel no melanomatoso tratado adecuadamente o carcinoma in situ (por ejemplo, carcinoma de mama, cáncer de cuello uterino in situ) que se han sometido a una terapia potencialmente curativa.

Kits y artículos de fabricación

[0281] En otra realización de la invención, se proporciona un artículo de fabricación o un kit que comprende un polipéptido (por ejemplo, un polipéptido de fusión descrito en el presente documento) que comprende una variante del dominio SIRP α D1 y una variante del dominio Fc. En algunas realizaciones, la variante del dominio SIRP α D1 comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 81, SEQ ID NO: 85. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc es (i) una región Fc de IgG1 humana que comprende mutaciones L234A, L235A, G237A y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (ii) una región Fc de IgG2 humana que comprende mutaciones A330S, P331S y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; (iii) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A y delG236, donde la numeración es según el índice EU de Kabat; o (iv) una región Fc de IgG4 humana que comprende mutaciones S228P, E233P, F234V, L235A, delG236 y N297A, donde la numeración es según el índice EU de Kabat. En algunas realizaciones, la variante del dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En algunas realizaciones, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:135 o SEQ ID NO:136. En algunas realizaciones, el polipéptido forma un homodímero. En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación es para uso de acuerdo con un método de tratamiento proporcionado en el presente documento.

[0282] En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además un anticuerpo anti-PD1. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-PD1 (p. ej., pembrolizumab) para tratar o retrasar la progresión del cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC, incluido NSCLC metastásico) en un individuo de acuerdo con un método de la presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-PD1 (p. ej., pembrolizumab) para tratar o retrasar la progresión del cáncer de pulmón (p. ej., NSCLC, incluido NSCLC metastásico) en un individuo que recibió terapia previa para NSCLC. En algunas realizaciones, el individuo ha progresado (p. ej., ha demostrado progresión de la enfermedad) durante (o después) de una terapia previa (p. ej., terapia previa con inhibidores del punto de control inmunitario) para el cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el individuo tiene una puntuación de proporción de tumor PD-L1 (TPS) menor que 50 %. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-PD1 (p. ej., pembrolizumab) para tratar o retrasar la progresión del HNSCC en un individuo de acuerdo con un método de la presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-PD1 (p. ej., pembrolizumab) para tratar o retrasar la progresión de HNSCC en un individuo que ha recibido una terapia previa con inhibidores de puntos de control inmunológico (p. ej., para HNSCC). En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-PD1 (p. ej., pembrolizumab) para tratar o retrasar la progresión de HNSCC en un individuo que no recibió terapia previa con inhibidor de punto de control inmunológico (p. ej., para HNSCC). En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-PD1 (p. ej., pembrolizumab) para tratar o retrasar la progresión del cáncer de cabeza y cuello (p. ej., HNSCC, incluido HNSCC metastásico) en un individuo que ha progresado (p. ej., progresión demostrada de la enfermedad) en (o después) de una terapia previa con platino (p. ej., una terapia que contiene platino). En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para administrar el pembrolizumab a una dosis de 200 mg cada 3 semanas (Q3W) por infusión IV. En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg cada semana (QW) por infusión IV.

[0283] En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además un anticuerpo anti-HER2. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-HER2 es trastuzumab. En algunas

realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-HER2 (p. ej., trastuzumab) para tratar o retrasar la progresión de cáncer gástrico positivo para HER2 o cáncer GEJ positivo para HER2 (por ejemplo, adenocarcinoma gástrico positivo para HER2 o adenocarcinoma GEJ positivo para HER2) en un individuo según un método proporcionado en el presente documento. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-HER2 (p. ej., trastuzumab) para tratar o retrasar la progresión de cáncer gástrico positivo para HER2 o cáncer GEJ positivo para HER2 (p. ej., adenocarcinoma gástrico positivo para HER2 o adenocarcinoma GEJ positivo para HER2) en un individuo que ha progresado (p. ej., ha demostrado progresión de la enfermedad) durante (o después) de una terapia previa para el cáncer gástrico o GEJ. En algunas realizaciones, la terapia previa comprendía un anticuerpo anti-HER2 y/o una terapia previa basada en fluoropirimidina. En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para administrar trastuzumab por infusión intravenosa una vez cada tres semanas (q3w), donde la dosis inicial de trastuzumab es de 8 mg/kg y cada dosis posterior de trastuzumab (es decir, después de la dosis inicial) es de 6 mg/kg. En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg cada semana (QW) por infusión IV.

[0284] En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además un anticuerpo anti-CD20. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD20 es rituximab. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-CD20 (p. ej., rituximab) para tratar o retrasar la progresión del linfoma no Hodgkin agresivo, o «NHL» (por ejemplo, DLBCL *de novo* o DLBCL transformado, o linfoma de células del manto) en un individuo de acuerdo con un método de la presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-CD20 (p. ej., rituximab) para tratar o retrasar la progresión del linfoma no Hodgkin agresivo o «NHL» (p. ej., DLBCL *de novo* o DLBCL transformado, o linfoma de células del manto) en un individuo que ha recaído o es refractario a una terapia previa (p. ej., terapia estándar previa/terapia curativa) para el NHL agresivo, o en un individuo para quien no existe una terapia disponible (p. ej., terapia curativa) para el NHL agresivo. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con el anticuerpo anti-CD20 (p. ej., rituximab) para tratar o retrasar la progresión del linfoma indolente (p. ej., NHL indolente), como linfoma de zona marginal o linfoma folicular) en un individuo de acuerdo con un método de la presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un prospecto o etiqueta con instrucciones para usar el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) junto con

el anticuerpo anti-CD20 (p. ej., rituximab) para tratar o retrasar la progresión del linfoma indolente (p. ej., NHL indolente, como linfoma de zona marginal o linfoma folicular) en un individuo que ha recaído o era refractario a una terapia previa (p. ej., terapia estándar previa, p. ej., terapia curativa) para linfoma indolente (p. ej., NHL indolente), o en un individuo para quien no hay una terapia disponible (p. ej., terapia curativa) para el linfoma indolente (p. ej., NHL indolente). En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para administrar el rituximab al individuo a una dosis de 375 mg/m² una vez a la semana (por ejemplo, una vez cada 7 días o «qw») durante las primeras cuatro semanas (p. ej., 28 días) de tratamiento y luego administrar rituximab al individuo a una dosis de 375 mg/m² una vez cada cuatro semanas (p. ej., cada 28 días o «q4w») por hasta cuatro dosis adicionales después de las primeras cuatro dosis o por hasta 8 dosis adicionales después de las primeras cuatro dosis. En algunas realizaciones, el kit o artículo de fabricación comprende además instrucciones para administrar el polipéptido (por ejemplo, polipéptido de fusión) a una dosis de 10 mg/kg o 15 mg/kg cada semana (QW) por infusión IV.

[0285] En algunas realizaciones de cualquiera de los kits o artículos de fabricación proporcionados en este documento, el polipéptido (p. ej., polipéptido de fusión) y el anticuerpo terapéutico (p. ej., pembrolizumab, trastuzumab o rituximab) están en el mismo recipiente o en recipientes separados. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, bolsas y jeringas. El recipiente puede estar formado por una variedad de materiales como vidrio, plástico (como cloruro de polivinilo o poliolefina) o aleación de metal (como acero inoxidable o hastelloy). En algunas realizaciones, el recipiente contiene la formulación y la etiqueta sobre, o asociada con, el recipiente puede indicar instrucciones de uso. El artículo de fabricación o kit puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y de usuario, incluidos otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso. En algunas realizaciones, el artículo de fabricación incluye además uno o más de otro agente (por ejemplo, un agente quimioterapéutico y un agente antineoplásico). Los recipientes adecuados para el uno o más agentes incluyen, por ejemplo, botellas, viales, bolsas y jeringas.

[0286] Se considera que la memoria descriptiva es suficiente para permitir que un experto en la técnica ponga en práctica la invención. Varias modificaciones de la invención además de las mostradas y descritas en el presente documento resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior y caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente mencionadas en la presente se incorporan mediante referencia en su totalidad a todos los efectos.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Estudio de fase 1 del Fármaco A en combinación con anticuerpos anticáncer establecidos en pacientes con neoplasias malignas avanzadas.

[0287] Este ejemplo describe un estudio clínico de fase 1 que evaluó la seguridad, eficacia, farmacodinamia (PD) y farmacocinética (PK) del Fármaco A en combinación con pembrolizumab, trastuzumab o rituximab para pacientes con neoplasias malignas avanzadas. El Fármaco A es una proteína de fusión que consiste en una variante del dominio SIRP α D1 de unión a CD47 de alta afinidad fusionada con una variante del dominio Fc de inmunoglobulina humana que se modifica para eliminar la unión a receptores Fc gamma (**Figura 1**).

Objetivos del estudio

Objetivo principal

[0288] El objetivo principal de este estudio fue evaluar la seguridad y tolerabilidad del Fármaco A administrado una vez a la semana y/o cada 2 semanas en combinación con pembrolizumab, trastuzumab o rituximab en pacientes con neoplasias avanzadas, incluido el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer gástrico que sobreexpresa HER2 y linfoma no Hodgkin (NHL).

Objetivos secundarios

[0289] Los objetivos secundarios de este estudio fueron:

- Evaluar el efecto antitumoral del Fármaco A en combinación con terapias contra el cáncer en pacientes con neoplasias malignas avanzadas.
- Evaluar el perfil de seguridad general del Fármaco A en combinación con otras terapias contra el cáncer.
- Caracterizar la dosis máxima tolerada (MTD)/dosis biológica óptima (OBD) del Fármaco A en combinación con agentes terapéuticos contra el cáncer.
- Caracterizar la farmacocinética de dosis única y múltiple del Fármaco A en combinación con los agentes terapéuticos contra el cáncer pembrolizumab, trastuzumab o rituximab.
- Evaluar la inmunogenicidad del Fármaco A.

Objetivos exploratorios

[0290] El objetivo exploratorio de este estudio fue explorar el efecto farmacodinámico del Fármaco A en combinación con terapias contra el cáncer en pacientes con neoplasias malignas avanzadas.

Pacientes

5 Criterios de inclusión

[0291] Todos los pacientes cumplieron los siguientes criterios para la fase de aumento de dosis del estudio:

- Diagnóstico histológico o citológico de neoplasia maligna de tumor sólido avanzado/metastásico o linfoma no Hodgkin de células B CD20⁺ recidivante/refractario que:
 - Fue resistente a la terapia estándar o para la cual no se dispuso de terapia curativa; o
 - Cumplió con cualquiera de los criterios (a-d) para la expansión de la dosis que se describen a continuación

- Las lesiones pueden ser medibles o no medibles.

[0292] Todos los pacientes cumplieron los siguientes criterios para la fase de expansión de dosis del estudio:

- a) NSCLC localmente avanzado o metastásico (TPS ≥ 1 %) que había progresado tras una terapia previa de punto de control, O NSCLC localmente avanzado o metastásico (TPS < 50 %) que había progresado después de la terapia sistémica para su enfermedad metastásica; los pacientes eran adecuados para el tratamiento con pembrolizumab; O
- b) HNSCC recurrente o metastásico con progresión de la enfermedad durante o después de la quimioterapia con platino y eran adecuados para el tratamiento con pembrolizumab; O
- c) Adenocarcinoma gástrico metastásico o de la unión gastroesofágica (GEJ) que sobreexpresa HER2 que había progresado después de la terapia sistémica con un régimen que contiene fluoropirimidina y/o terapia con un anticuerpo anti-HER2 para su enfermedad metastásica y era adecuado para el tratamiento con trastuzumab;

d) Linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) recidivante o refractario, *de novo* o transformado, o linfoma de células del manto para el que no se disponía de terapia curativa; O linfoma indolente (zona marginal, folicular) que recayó o fue refractario a las terapias estándar aprobadas.

- 5 • Los pacientes tenían al menos una lesión medible según lo definido por RECIST versión 1.1 o los criterios de Lugano (2014).

[0293] Además, todos los pacientes cumplieron los siguientes criterios:

- Función adecuada de la médula ósea, que incluye:
 - 10 ○ Recuento absoluto de neutrófilos (ANC) $\geq 1.500/\text{mm}^3$ ($\geq 1,5 \times 10^9/\text{L}$); linfoma no Hodgkin, solo, ANC $\geq 1.000/\text{mm}^3$ ($\geq 1,0 \times 10^9/\text{L}$);
 - Plaquetas $\geq 75.000/\text{mm}^3$ ($\geq 75 \times 10^9/\text{L}$); solo linfoma no Hodgkin: Plaquetas $\geq 50.000/\text{mm}^3$ ($\geq 50 \times 10^9/\text{L}$);
 - Hemoglobina $\geq 9 \text{ g/dL}$ ($\geq 90 \text{ g/L}$); solo linfoma no Hodgkin: Hemoglobina $\geq 8 \text{ g/dL}$ ($\geq 80 \text{ g/L}$).
- 15 • Función renal adecuada, que incluye:
 - Creatinina sérica $\leq 1,5 \times$ límite superior de la normalidad (ULN) o aclaramiento de creatinina estimado $\geq 60 \text{ mL/min}$ calculado utilizando el método estándar de la institución.
- Función hepática adecuada, que incluye:
 - 20 ○ Bilirrubina sérica total $\leq 1,5 \times \text{ULN}$ ($\leq 3,0 \times \text{ULN}$ si el paciente tenía síndrome de Gilbert documentado);
 - Aspartato y alanina transaminasa (AST y ALT) $\leq 3,0 \times \text{ULN}$; $\leq 5,0 \times \text{ULN}$ si hubo compromiso hepático secundario al tumor;
 - Fosfatasa alcalina $\leq 2,5 \times \text{ULN}$ ($\leq 5,0 \times \text{ULN}$ si hay metástasis ósea o hepática).
- 25 • Intervalo QT corregido para el intervalo de Fridericia de frecuencia cardíaca (QTcF) de $\leq 480 \text{ ms}$ (basado en el valor medio de ECG por triplicado).
- Edad ≥ 18 años.
- Estado de desempeño (PS) del Grupo Oncológico Cooperativo del Este (ECOG) de 0 o 1.

- Efectos agudos de cualquier tratamiento previo resueltos hasta la gravedad inicial o el Grado ≤ 1 (NCI CTCAE v,4,03), excepto los AE que no constituyen un riesgo de seguridad a juicio del Investigador.
- Muestra de biopsia metastásica de archivo (o fresca) disponible antes del ingreso al estudio (solo fase de expansión).
- Prueba de embarazo en suero (para mujeres en edad fértil) negativa en la selección.

Criterios de exclusión

10 **[0294]** En este estudio no se incluyeron pacientes con alguna de las siguientes características:

- Pacientes con metástasis sintomáticas conocidas del CNS o enfermedad leptomeníngea que requieran esteroides. Los pacientes con metástasis cerebrales diagnosticadas previamente fueron elegibles si completaron su tratamiento y se recuperaron de los efectos agudos de la radioterapia o la cirugía antes de ingresar al estudio, suspendieron el tratamiento con corticosteroides para estas metástasis y se mantuvieron clínicamente estables sin anticonvulsivos durante al menos 4 semanas y eran neurológicamente estables antes de la inscripción.
- Pacientes con aberraciones tumorales genómicas ALK o EGFR (NSCLC, expansión de la Parte 2 solamente), o cualquier paciente con antecedentes de neumonitis (no infecciosa) que requirió esteroides o que tuviera neumonitis actual.
- Pacientes con linfoma de alto grado (incluido linfoma de Burkitt, linfoma linfoblástico, transformación de Richter), CLL o leucemia de células plasmáticas
- Quimioterapia previa de dosis alta que requirió rescate de células madre alogénicas.
- Irradiación previa a $> 25\%$ de la médula ósea (solo pacientes sin linfoma), o cualquier paciente que haya recibido radioterapia previa dentro de las 2 semanas posteriores al inicio del tratamiento del estudio. Nota: Los participantes deben haberse recuperado de todas las toxicidades relacionadas con la radiación, no haber necesitado corticosteroides y no haber tenido neumonitis por radiación. Se permitió un período de lavado de 1 semana para la radiación paliativa (≤ 2 semanas de radioterapia) para enfermedades no relacionadas con el CNS.

- Tratamiento previo con cualquier agente anti-CD47 o anti-SIRP α .
- Terapia sistémica contra el cáncer dentro de las 4 semanas posteriores al inicio del tratamiento del estudio (6 semanas para mitomicina C o nitrosoureas). Si se administró terapia anticancerosa sistémica dentro de las 4 semanas, se incluyó al paciente si había transcurrido 4-5 veces la semivida de eliminación del fármaco.
- Tratamiento previo con (solo fase de expansión):
 - Un inhibidor de PD-1 o PD-L1 (NSCLC; HNSCC) para la enfermedad metastásica con progresión de la enfermedad dentro de las 8 semanas posteriores al inicio.
 - Trastuzumab (cáncer gástrico/GEJ) para la enfermedad metastásica con progresión de la enfermedad como la mejor respuesta.
- Pacientes con intolerancia o que hayan tenido una reacción alérgica o anafiláctica grave a anticuerpos o proteínas terapéuticas infundidas, o pacientes que hayan tenido una reacción alérgica o anafiláctica grave a cualquiera de las sustancias incluidas en el fármaco del estudio (incluidos los excipientes); o que interrumpió el tratamiento debido a un AE de grado 3 o superior relacionado con la inmunidad de una terapia previa con un agente anti-PD-1, anti-PD-L1 o anti PD-L2 o con un agente que tiene como objetivo modular otra diana de células inmunitarias (p. ej., CTLA-1, OX40, 41BB, etc.).
- Cualquier anticuerpo experimental o vacuna viva en los últimos 28 días antes de la primera dosis del fármaco del estudio. No se permitieron vacunas vivas atenuadas.
- Terapia activa actual para el diagnóstico primario.
- Transfusiones de hemoderivados dentro de los 14 días del Ciclo 1 Día 1.
- Antecedentes de trastornos autoinmunitarios (o activos) (que incluyen, entre otros: enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, esclerodermia, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Grave) y otras afecciones que comprometen o deterioran el sistema inmunológico (con la excepción de la hipogammaglobulinemia).
- Antecedentes de anemia hemolítica autoinmune o trombocitopenia autoinmune.
- Pacientes con infección bacteriana, fúngica o viral activa, incontrolada, clínicamente significativa, que incluye hepatitis B (HBV), hepatitis C (HCV), virus de

inmunodeficiencia humana (VIH) conocido o enfermedad relacionada con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

- Pacientes con enfermedad de injerto contra huésped activa (GVHD) o inmunosupresión en curso para GVHD.
- 5
- Ninguno de los siguientes en los 12 meses anteriores: infarto de miocardio, angina grave/inestable, injerto de derivación de arteria coronaria/periférica, insuficiencia cardíaca congestiva sintomática, accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio, trombosis venosa profunda o embolia pulmonar sintomática.
 - Tratamiento activo actual en otro estudio clínico terapéutico intervencionista.
- 10
- Diagnóstico de cualquier otra neoplasia maligna en los últimos 3 años antes de la inscripción, excepto el cáncer de piel no melanomatoso tratado adecuadamente o el carcinoma *in situ* (p. ej., carcinoma de mama, cáncer de cuello uterino *in situ*) que se sometió a una terapia potencialmente curativa.
 - Otra afección médica o psiquiátrica aguda o crónica grave, incluida la ideación o
- 15
- comportamiento suicida reciente (en el último año) o activo, o anomalías de laboratorio que aumentaron el riesgo asociado con la participación en el estudio o la administración de productos en investigación o que interfirieron con la interpretación de los resultados del estudio y, a juicio del investigador, hizo que el paciente fuera inadecuado para participar en este estudio.
- 20
- Hombres y mujeres en edad fértil que no utilicen un método anticonceptivo muy eficaz o que no hayan acordado continuar con un método anticonceptivo muy eficaz durante al menos 90 días después de la última dosis del producto en investigación.
 - Pacientes que estaban embarazadas o en período de lactancia.

Tratamiento del estudio

- 25 **[0295]** Como se muestra en la **Figura 2**, este estudio tenía tres brazos de tratamiento (Fármaco A + pembrolizumab; Fármaco A + trastuzumab; Fármaco A + rituximab). El estudio incluyó una parte de aumento de la dosis inicial seguida de una parte de expansión de la dosis. Cada grupo de aumento de dosis tenía aproximadamente 12 pacientes con neoplasia maligna avanzada. Cada grupo de expansión tenía aproximadamente 20-40 pacientes en múltiples sitios.

[0296] El Fármaco A se administró semanalmente (o cada 2 semanas) como una infusión IV durante aproximadamente 60 minutos de forma ambulatoria. El uso de una bomba de infusión fue el método de administración preferido para asegurar la administración precisa del producto en investigación, pero se permitió el goteo por gravedad.

5 **[0297]** El Fármaco A se suministró en un vial de vidrio transparente de tipo 1 de 100 mg/5 mL o 400 mg/20 mL, sellado con un tapón de suero de caucho recubierto de teflón de 20 mm y un sello de aluminio a prueba de manipulaciones. Cada vial de un solo uso proporciona 100 mg de Fármaco A (5 mL) o 400 mg de Fármaco A (20 mL) y está destinado a la administración intravenosa (IV).

10 **[0298]** Un ciclo se definió como el tiempo transcurrido desde la dosis del Día 1 hasta la siguiente dosis del Día 1. Si no hubo retrasos en el tratamiento, un ciclo fue de 21 días para la dosificación semanal y 28 días para la dosificación cada 2 semanas.

[0299] Todos los tratamientos del ensayo se administraron de forma ambulatoria. Se observó a los pacientes en la clínica durante al menos 2 horas después de la infusión del Fármaco A en el día 1 del ciclo 1 (C1D1) y, posteriormente, según se indique clínicamente.

15 **[0300]** No se requirió premedicación para el Fármaco A. Se siguieron las pautas en los prospectos de los paquetes de terapia combinada de pembrolizumab, trastuzumab y rituximab.

[0301] En las fases de aumento y expansión de la dosis, la terapia de compañero de combinación se administró de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta:

- 20 ○ Trastuzumab: dosis inicial de 8 mg/kg administrada como infusión intravenosa durante 90 minutos, seguida de infusión intravenosa (IV) de 6 mg/kg administrada durante 30 a 90 minutos cada 3 semanas.
- Pembrolizumab: 200 mg IV administrados como infusión intravenosa durante 30 minutos cada 3 semanas durante un máximo de 24 meses.
- 25 ○ Rituximab: 375 mg/m² administrados como infusión intravenosa una vez a la semana durante 4 dosis seguidas de una vez al mes durante 8 dosis (iniciada a una velocidad de 50 mg/h y aumentada en incrementos de 50 mg/h cada 30 minutos, hasta un máximo de 400 mg/h en ausencia de toxicidad por infusión). Si se toleraba la primera infusión de rituximab, las infusiones posteriores se iniciaban a una velocidad de 100 mg/h y aumentaban en incrementos de 100 mg/h a
- 30 intervalos de 30 minutos, hasta un máximo de 400 mg/h en ausencia de toxicidad.

[0302] En los días de administración en los que coincidían los horarios de dosificación, el compañero de combinación comenzó aproximadamente 30 minutos después de que finalizara la terapia con el Fármaco A. En esos días, en caso de omitir una dosis del Fármaco A debido a la toxicidad, el fármaco asociado se administró 24 horas después de la dosis omitida. En caso de que se suspendiera permanentemente el Fármaco A, se suspendió al paciente de la fase de tratamiento del estudio. En el caso de que el fármaco asociado se suspendiera permanentemente, el paciente continuó con el Fármaco A como agente único durante un máximo de 24 meses si, en opinión del investigador, el paciente estaba obteniendo un beneficio clínico del Fármaco A.

Componente de aumento de dosis

[0303] Para el Fármaco A, el componente de aumento de la dosis inicial comenzó un nivel de dosis por debajo de la dosis máxima tolerada (MTD) de agente único o la dosis máxima administrada (MAD) (3-6 pacientes en cada nivel de dosis) teniendo en cuenta el perfil de toxicidad limitante (DLT) del agente único observada del Fármaco A y el perfil de seguridad conocido del agente de combinación propuesto (**Tabla A**). Si la dosis del Fármaco A era segura y bien tolerada en combinación, entonces el nivel de dosis del Fármaco A se incrementaba hasta la MTD o MAD con el agente de combinación.

[0304] No se ha alcanzado ninguna MTD para el Fármaco A como agente único. La MAD para el Fármaco A como agente único fue de 30 mg/kg administrados por vía IV cada dos semanas (QOW o Q2W)

Tabla A. Aumento de dosis para el Fármaco A.

Cohorte	Dosis, mg/kg	Vía de administración	Frecuencia de dosificación
1	0,3	IV	Una vez por semana
2	1,0	IV	Una vez por semana
3	3,0	IV	Una vez por semana
4	10,0	IV	Una vez por semana
5	30,0	IV	Una vez cada 2 semanas

Fase de expansión

[0305] El Fármaco A se administró una vez por semana (QW) a una dosis de 10 mg/kg como infusión intravenosa (IV) durante aproximadamente 60 minutos de forma ambulatoria.

[0306] En la fase de expansión, la terapia de compañero de combinación se administró de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta, como se describe anteriormente.

[0307] El grupo de expansión de Fármaco A + pembrolizumab incluyó hasta 20 pacientes con NSCLC metastásico y hasta 20 pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello
5 recurrente o metastásico.

[0308] El grupo de expansión del Fármaco A + trastuzumab incluyó hasta 20 pacientes con carcinoma gástrico que sobreexpresa HER2 (positivo para HER2).

[0309] El grupo de expansión de Fármaco A + rituximab incluyó aproximadamente 10 pacientes con linfoma difuso de células B grandes recidivante o refractario, y aproximadamente 10 pacientes con
10 linfoma indolente.

[0310] Cada paciente recibió el Fármaco A hasta la progresión de la enfermedad, la toxicidad inaceptable, la retirada del consentimiento o la finalización del estudio. Los pacientes recibieron la terapia del estudio en el estudio después de la progresión radiográfica si, a criterio del investigador, el paciente estaba obteniendo un beneficio clínico del tratamiento del estudio.

Análisis de eficacia

[0311] La tasa de respuesta global (ORR), la tasa de control de la enfermedad (DCR), la duración de la respuesta (DoR), la supervivencia libre de progresión (PFS) y la supervivencia global (OS) se analizaron en la población ITT y en la población evaluable.

[0312] La respuesta objetiva del tumor se evaluó utilizando los Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 para tumores sólidos. Las evaluaciones de tumores incluyeron
20 todos los sitios de enfermedad conocidos o sospechosos. Las imágenes incluyeron tomografías computarizadas o resonancias magnéticas de tórax, abdomen y pelvis; tomografía computarizada o resonancia magnética del cerebro para pacientes con metástasis cerebrales conocidas o sospechadas; gammagrafía ósea y/o radiografías óseas para pacientes con metástasis óseas conocidas o
25 sospechadas. Además, para los pacientes con linfoma, las pruebas incluyeron tomografías por emisión de positrones y evaluación de la médula ósea. La misma técnica de imagen utilizada para caracterizar cada lesión identificada y notificada al inicio del estudio se empleó en las siguientes evaluaciones de tumores.

[0313] La actividad antitumoral se evaluó mediante evaluaciones radiológicas tumorales realizadas
30 al inicio del estudio, durante el tratamiento, siempre que se sospechara progresión de la enfermedad

(p. ej., deterioro sintomático) y en el momento de la retirada del estudio (si no se realizó en las 6 semanas anteriores).

[0314] La evaluación de la respuesta se realizó utilizando RECIST versión 1.1 o, cuando fuera relevante, los Criterios de Lugano (Cheson *et ál.*, J. Clin. Oncol (2014) 32:27: 3059-3068.).

5 **[0315]** Los cambios en el tamaño del tumor se categorizaron como respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR), enfermedad estable (SD) o enfermedad progresiva (PD), incorporando esta última la aparición de nuevas lesiones. En las cohortes de expansión, se llevó a cabo un análisis secundario utilizando el RECIST 1,1 relacionado con el sistema inmunitario. Para facilitar este análisis secundario, solo en las cohortes de expansión, se recogieron los diámetros (el más largo para las
10 lesiones no ganglionares, el más corto para las lesiones ganglionares) de todas las lesiones objetivo y nuevas medibles. Además, en las cohortes de expansión, se requirió la confirmación tanto de la progresión como de la respuesta mediante imágenes al menos 4 semanas a partir de la fecha documentada por primera vez.

Análisis de PK/PD y biomarcadores

15 **[0316]** Las concentraciones de fármaco del Fármaco A se midieron utilizando métodos validados. Las concentraciones séricas del Fármaco A se analizaron utilizando un ELISA de unión a ligando validado. Los parámetros PK se determinaron a partir de los respectivos datos de concentración-tiempo utilizando métodos estándar no compartimentales. Se utilizaron tiempos reales de recolección de muestras para los cálculos de los parámetros. Para el Fármaco A, se calcularon los parámetros PK que
20 incluyen la concentración máxima ($C_{m\acute{a}x}$), el tiempo hasta la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$), el área bajo la curva de concentración-tiempo ($AUC_{\acute{u}ltimo}$, AUC_{inf} y o AUC_T). Según corresponda, se calcularon los parámetros PK adicionales, incluido el aclaramiento (CL), el volumen de distribución (V_z), la vida media de eliminación terminal ($t_{1/2}$) y el índice de acumulación (R_{ac}).

[0317] Se realizaron análisis PK/PD para explorar la relación exposición-respuesta utilizando
25 métodos apropiados basados en modelos para ayudar a la determinación de OBD. Los datos farmacodinámicos (ocupación de receptores e inmunofenotipificación) se resumieron gráficamente y con estadísticas descriptivas por tiempo y dosis.

[0318] Se exploró el análisis PK/PD utilizando métodos apropiados basados en modelos para comprender mejor la relación exposición-respuesta. Se analizaron los niveles de ocupación del objetivo
30 de CD47 antes y después de la dosis y se realizó la inmunofenotipificación de la población de leucocitos circulantes. La ocupación del objetivo de CD47 en linfocitos T y eritrocitos de sangre periférica se midió mediante citometría de flujo. Se analizaron poblaciones de leucocitos infiltrantes y moléculas

inmunomoduladoras en tejido de biopsia tumoral antes y después del tratamiento, y citocinas y quimiocinas específicas en suero antes y después del tratamiento. Se realizó un análisis molecular exploratorio (incluidos, entre otros, marcadores inmunitarios adicionales) en muestras de sangre periférica y biopsias de tumores antes y después del tratamiento.

5 **[0319]** Se midieron CD8, CD68, CD163 y PD-L1 en tejido tumoral mediante ensayos de inmunohistoquímica (IHC). Los valores porcentuales positivos para CD8, CD68 y CD163 se obtuvieron mediante análisis de imágenes. La puntuación de proporción tumoral (TPS) de PD-L1 (clon 22C3) y la puntuación positiva combinada (CPS) se obtuvieron mediante revisión patológica. Los niveles de HER2 se determinaron usando HERCEPTEST™. La expresión de ARN de biopsias tumorales emparejadas se evaluó usando el panel de expresión NANOSTRING IO360™. Se realizaron análisis de abundancia de tipos de células y perfiles de vías utilizando firmas genéticas predefinidas utilizando el software de análisis NANOSTRING nSOLVER™.

15 **[0320]** Se recolectaron muestras de sangre en la visita inicial y se conservaron para análisis farmacogenómicos relacionados con la respuesta al fármaco. Por ejemplo, se examinan polimorfismos del gen SIRPα, biomarcadores de seguridad putativos, genes de enzimas que metabolizan fármacos, genes de proteínas transportadoras de fármacos o genes que se cree que están relacionados con el mecanismo de acción del fármaco.

Resultados

20 Características del paciente

[0321] En este estudio se inscribieron ochenta y dos pacientes con neoplasias malignas de tumores sólidos avanzados. Las características iniciales del paciente se proporcionan en la **Tabla B**.

Tabla B. Características iniciales de los pacientes

		Trastuzumab n=30	Pembrolizumab N=52
Enfermedad primaria, n	Gástrico/GEJ/esofágico	25	-
	HNSCC	-	20
	NSCLC	-	26

	Mama	2	-
	Colorrectal	-	2
	Ovárico	1	2
	Pancreático	1	-
	Peritoneal	-	1
	Apendicular	-	1
	Urotelial	1	-
Edad mediana, años (intervalo)		58 (45-79)	61 (32-81)
Sexo, n	F	9	23
	M	21	29
Raza, n	Blanco	13	34
	Asiático	14	11
	Otros	3	7
ECOG PS, n	0	8	16
	1	22	36

Seguridad

[0322] El Fármaco A en combinación con trastuzumab o pembrolizumab fue bien tolerado y la mayoría de los eventos adversos relacionados con el tratamiento (TRAE) fueron de bajo grado y frecuencia. Los eventos adversos relacionados con el tratamiento que ocurren en dos o más pacientes se proporcionan en la **Tabla C** para la combinación de Fármaco A + trastuzumab, y en la **Tabla D** para la combinación de Fármaco A + pembrolizumab. El TRAE más frecuente en la combinación de Fármaco A + trastuzumab fue la fatiga (26,7 %). El TRAE más frecuente de la combinación del Fármaco A + pembrolizumab fue el aumento de AST (15,4 %).

Tabla C. Eventos adversos relacionados con el tratamiento que ocurrieron en dos o más pacientes tratados con la combinación de Fármaco A + trastuzumab.

Eventos adversos relacionados con el tratamiento
--

Fármaco A + Trastuzumab (N = 30)		
Evento adverso	Total n (%)	≥ Grado 3
Fatiga	8 (26,7)	
Disminución de plaquetas	4 (13,3)	2 (6,7)
Disminución del apetito	3 (10)	
Pirexia	3 (10)	
Anemia	2 (6,7)	
Náuseas	2 (6,7)	
Neutropenia	2 (6,7)	2 (6,7)

Tabla D. Eventos adversos relacionados con el tratamiento que ocurrieron en dos o más pacientes tratados con la combinación de Fármaco A + pembrolizumab.

Eventos adversos relacionados con el tratamiento		
Fármaco A + Pembrolizumab (N = 52)		
Evento adverso	Total n (%)	≥ Grado 3
Aumento de AST	8 (15,4)	
Aumento de ALT	7 (13,5)	1 (1,9)
Fatiga	6 (11,5)	
Prurito	5 (9,6)	
Anemia	4 (7,7)	1 (1,9)
Reacción a la infusión	4 (7,7)	
Disminución de plaquetas	4 (7,7)	2 (3,8)
Aumento de la fosfatasa alcalina	3 (5,7)	
Artralgia	3 (5,8)	

Pirexia	3 (5,8)	
Disminución de WBC	3 (5,8)	
Disminución del apetito	2 (3,8)	
Mialgia	2 (3,8)	
Náuseas	2 (3,8)	
Neutropenia	2 (3,8)	1 (1,9)
Sarpullido	2 (3,8)	

[0323] Los TRAE de gravedad de Grado 3 fueron de baja frecuencia. En la combinación de Fármaco A + trastuzumab, se notificó un evento adverso grave de neutropenia febril relacionado con el tratamiento. En la combinación de Fármaco A + pembrolizumab, se informaron tres eventos adversos graves relacionados con el tratamiento: uno anemia hemolítica autoinmune, uno neutropenia febril y uno neutropenia.

Eficacia

Aumento de dosis

[0324] El componente de aumento de dosis tuvo un total de 22 pacientes. En la cohorte de combinación de Fármaco A + trastuzumab (n = 10), de los 8 pacientes evaluables, 3 presentaron enfermedad estable (SD) (2 pacientes tenían cáncer de mama, 1 paciente tenía GEJ). En la cohorte de combinación de Fármaco A + pembrolizumab (n = 12), de los 10 pacientes evaluables, 1 presentó una respuesta parcial (PR) (NSCLC que fue refractario al CPI) y 3 exhibieron enfermedad estable (1 paciente tenía cáncer de apéndice, 2 pacientes tenían NSCLC).

Expansión de dosis

[0325] La fase de expansión de dosis tuvo un total de 60 pacientes.

[0326] Cohorte de combinación de Fármaco A + trastuzumab con cáncer gástrico/GEJ positivo para HER2 (n = 20): De los 18 pacientes evaluables, 4 mostraron una respuesta parcial (confirmada) y 5 una enfermedad estable. La **Figura 3A** proporciona el cambio porcentual de la evaluación de la enfermedad desde la línea de base. La ORR fue del 22 %, la DCR fue del 28 % y la mPFS fue de 2,2 meses. La **Figura 3B** proporciona el cambio porcentual de la evaluación de la enfermedad desde la línea de base para cada paciente durante el período de estudio. La **Figura 3C** proporciona la duración

del tratamiento para los pacientes inscritos en esta cohorte. Los tumores se evaluaron de acuerdo con los Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 (EA Eisenhauer, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247.)

[0327] Cohorte de combinación de Fármaco A + pembrolizumab con HNSCC (n = 20): De los 19 pacientes evaluables, 3 presentaron una respuesta parcial (2 confirmada, 1 no confirmada) y 6 exhibieron enfermedad estable. La **Figura 4A** proporciona el cambio porcentual de la evaluación de la enfermedad desde la línea de base. La ORR fue del 16 % para todos los pacientes y del 30 % para los pacientes sin terapia previa de punto de control; la DCR fue del 26 % para todos los pacientes y del 30 % para los pacientes sin terapia previa de punto de control y la mPFS fue de 2,1 meses para todos los pacientes. Además, se informa la puntuación positiva combinada (CPS) para la tinción de PD-L1 para cada paciente. La **Figura 4B** proporciona el cambio porcentual de la evaluación de la enfermedad desde la línea de base para cada paciente durante el período de estudio. La **Figura 4C** proporciona la duración del tratamiento para los pacientes inscritos en esta cohorte. Los tumores se evaluaron de acuerdo con los Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 (EA Eisenhauer, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247.)

[0328] Cohorte de combinación de Fármaco A + pembrolizumab con NSCLC (n = 20): De los 18 pacientes evaluables, 8 presentaban enfermedad estable. La **Figura 5A** proporciona el cambio porcentual de la evaluación de la enfermedad desde la línea de base. La tasa de control de la enfermedad (DCR) fue del 17 % y la mPFS fue de 2 meses. Además, se informa la puntuación de la proporción de tumores (TPS) para la tinción de PD-L1 para cada paciente. La **Figura 5B** proporciona el cambio porcentual de la evaluación de la enfermedad desde la línea de base para cada paciente durante el período de estudio. La **Figura 5C** proporciona la duración del tratamiento para los pacientes inscritos en esta cohorte. Los tumores se evaluaron de acuerdo con los Criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos (RECIST) versión 1.1 (EA Eisenhauer, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247.)

Farmacocinética

[0329] Las observaciones de PK del Fármaco A de cohortes de combinación del Fármaco A + trastuzumab y el Fármaco A + pembrolizumab estaban dentro de los intervalos previstos del 95 % según un modelo de PK poblacional establecido (Jin F.*et ál.*, (2018) Soc Immunotherapy of Cancer Conference, # P340) (**Figura 6A**). Se predijo que la vida media en estado estacionario del Fármaco A (10 mg/kg QW) sería de aproximadamente 16 días. Como se muestra en la **Figura 6B**, la ocupación de la diana CD47 casi completa en las células T CD4 + que expresan CD47 se mantuvo durante todo el intervalo de dosificación del Fármaco A en ambas cohortes de combinaciones.

Respuesta antitumoral

[0330] Como se muestra en la **Figura 7A**, las biopsias pareadas de 5 pacientes con NSCLC tratados con el Fármaco A + pembrolizumab, 6 pacientes con HNSCC tratados con el Fármaco A + pembrolizumab y 1 paciente con cáncer gástrico tratado con el Fármaco A + trastuzumab revelaron un aumento en los macrófagos asociados al tumor y los linfocitos infiltrantes después del tratamiento. Las imágenes de pacientes individuales que muestran tinción para CD68 y CD8 antes y durante el tratamiento se proporcionan en la **Figura 7B** (paciente con NSCLC PD-L1(-) tratado con el Fármaco A + pembrolizumab) y la **Figura 7C** (paciente con HNSCC PD-L1(+)) tratado con el Fármaco A + pembrolizumab). Los marcadores CD68 y CD163 indican macrófagos; el marcador CD8 indica linfocitos T.

Conclusiones

[0331] El Fármaco A en combinación con pembrolizumab o trastuzumab demuestra una excelente tolerabilidad con características PK/PD favorables. Se observaron respuestas objetivas en pacientes con NSCLC de línea tardía, HNSCC y gástrico/GEJ, incluida la enfermedad recidivante/refractaria a terapias previas dirigidas a CPI y HER2.

[0332] El Fármaco A (10 mg/kg QW; equivalente molar a 20 mg/kg de un anticuerpo) en combinación con regímenes estándar de trastuzumab o pembrolizumab fue bien tolerado con un perfil de seguridad hematológico favorable.

[0333] El Fármaco A demuestra actividad anticancerígena en combinación con trastuzumab en pacientes positivos para HER2 que han progresado con terapias previas dirigidas a HER2 (p. ej., tumores gástricos/GEJ positivos para HER2 que han progresado con terapias previas dirigidas a HER2).

[0334] El Fármaco A demuestra actividad anticancerosa en combinación con pembrolizumab en pacientes con:

- ≥2L HNSCC que se compara favorablemente con la experiencia de pembrolizumab como agente único.
- NSCLC, incluidos los tumores resistentes/refractarios a la terapia previa con inhibidores de puntos de control.

[0335] El Fármaco A demuestra una PK similar a un anticuerpo y una ocupación completa del objetivo CD47 en combinación con trastuzumab o pembrolizumab.

[0336] Los datos preliminares de biopsias tumorales emparejadas sugieren un aumento de macrófagos intratumorales y células T CD8+ después del tratamiento con el Fármaco A.

[0337] En conjunto, los datos presentados en este Ejemplo demuestran la eficacia y seguridad del fármaco A administrado en combinación con pembrolizumab, trastuzumab o rituximab, en pacientes con neoplasias malignas avanzadas que incluyen cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer gástrico que sobreexpresa HER2 y linfoma no Hodgkin (NHL). Sin pretender imponer ninguna teoría, como se muestra en la **Figura 8**, se cree que el Fármaco A, cuando se administra en combinación con anticuerpos terapéuticos anticancerosos como pembrolizumab, trastuzumab o rituximab, maximiza la respuesta inmune innata y adaptativa al cáncer. En particular, se cree que el Fármaco A: 1) mejora la fagocitosis de macrófagos de las células cancerosas bloqueando CD47; 2) aumenta la proporción de macrófagos inflamatorios asociados a tumores M1 (TAM) a TAM M2 supresores; y 3) Activa las células dendríticas (DC) y mejora el cebado cruzado de las células T. Además, se cree que el Fármaco A en combinación con anticuerpos anticancerosos evita las toxicidades limitantes de la dosis asociadas con otros enfoques de objetivo de CD47 al tiempo que maximiza la respuesta inmune innata y adaptativa.

Ejemplo 2A: Resultados de seguridad adicionales de un estudio de fase 1 del Fármaco A en combinación con pembrolizumab o trastuzumab

[0338] Como se describe en el **Ejemplo 1**, 52 pacientes con tumor sólido recibieron el Fármaco A en combinación con pembrolizumab y 30 pacientes con tumor sólido recibieron el Fármaco A en combinación con trastuzumab. Los efectos adversos relacionados con el tratamiento (TRAE) (que incluyen fatiga, aumento de AST, disminución de plaquetas, aumento de ALT, anemia y/o prurito) fueron de bajo grado y baja frecuencia.

[0339] 35 (67,3 %) de los pacientes que recibieron el Fármaco A + pembrolizumab y 22 (73,3 %) de los pacientes que recibieron el Fármaco A + trastuzumab experimentaron algún TRAE. El TRAE más frecuente experimentado por los pacientes que recibieron el Fármaco A + pembrolizumab fue el aumento de la transaminasa de aspartato de bajo grado (AST) (17,3 %), y el TRAE más frecuente experimentado por los pacientes que recibieron el Fármaco A + trastuzumab fue la fatiga de bajo grado (30 %). Los TRAE de gravedad $\geq$ Grado 3 fueron de baja frecuencia. Consulte **las Tablas E y F a** continuación.

Tabla E: TRAE en pacientes que reciben el Fármaco A + trastuzumab

Evento adverso	Total N (%)	$\geq$ Grado 3
----------------	-------------	----------------

Fatiga	9 (30)	–
DISMINUCIÓN DE PLAQUETAS	5 (16,7)	2 (6,7)
Disminución de apetito	3 (10)	–
PRURITO	3 (10)	–
Pirexia	3 (10)	–
Anemia	2 (6,7)	–
Náuseas	2 (6,7)	–
Neutropenia	2 (6,7)	2 (6,7)

Tabla F: TRAE en pacientes que reciben el Fármaco A + pembrolizumab

Evento adverso	Total N (%)	≥ Grado 3
Aumento de AST	9 (17,3)	–
Aumento de ALT	7 (13,5)	1 (1,9)
Fatiga	6 (11,5)	–
Anemia	5 (9,6)	1 (1,9)
Prurito	5 (9,6)	–
SARPULLIDO	5 (9,6)	–
Reacción a la infusión	4 (7,7)	–
DISMINUCIÓN DE PLAQUETAS	4 (7,7)	2 (3,8)
Aumento de la fosfatasa alcalina	3 (5,8)	–
Artralgia	3 (5,8)	–
Pirexia	3 (5,8)	–
Disminución de WBC	3 (5,8)	–
Disminución de apetito	2 (3,8)	–

Evento adverso	Total N (%)	≥ Grado 3
Mialgia	2 (3,8)	—
Náuseas	2 (3,8)	—
Neutropenia	2 (3,8)	1 (1,9)

Para las **Tablas E y F**, SARPULLIDO: sarpullido, sarpullido papulo-macular, sarpullido vesicular, sarpullido dermatitis pruriginosa; **DISMINUCIÓN DE PLAQUETAS**: disminución de plaquetas, trombocitopenia; **PRURITO**: prurito, prurito generalizado.

- 5 **[0340]** Se informaron cuatro eventos adversos graves relacionados con el tratamiento (TRSAE) en pacientes que recibieron el Fármaco A + pembrolizumab: 1 paciente experimentó anemia hemolítica/pancitopenia autoinmune; 1 paciente experimentó neutropenia febril; 1 paciente experimentó neutropenia; y 1 paciente experimentó neuropatía periférica. Se informó un TRSAE en pacientes que recibieron el Fármaco A + trastuzumab. El paciente experimentó neutropenia febril.
- 10 **[0341]** El Fármaco A muestra una relación exposición-seguridad favorable en todos los rangos de exposición administrados en la clínica (es decir, 10 mg/kg qw - 30 mg/kg qow) sin que se observen citopenias dependientes de la exposición.

Ejemplo 2B: Resultados adicionales de un estudio de fase 1 del Fármaco A en combinación con pembrolizumab en pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello ≥2L

- 15 **[0342]** Como se describe en el **Ejemplo 1**, 20 pacientes con HNSCC ≥2L recibieron el Medicamento A en combinación con pembrolizumab. Las características iniciales de todos los pacientes que recibieron el Fármaco A + pembrolizumab (incluidos los pacientes con NSCLC ≥ 2L, como se describe con más detalle en el **Ejemplo 2C** a continuación) se muestran en la **Tabla G**.

Tabla G: Características iniciales de todos los pacientes* que recibieron el Fármaco A + pembrolizumab

	Fármaco A + Pembrolizumab N=52
Enfermedad primaria, n	

	Fármaco A + Pembrolizumab N=52
Pulmón	25
HNSCC	20
Gástrico/GEJ Esofágico	–
Mama	–
Colorrectal	2
Ovárico	2
Pancreático	–
Apendicular	1
Sarcoma	1
Urotelial	–
Desconocido	1
Edad media	
Años (rango)	61 (32-81)
Sexo, n	
M	29
F	23
Raza, n	
Blanco	34
Asiático	11
Afrodescendiente	3
Otros	4

	Fármaco A + Pembrolizumab N=52
ECOG PS, n	
0	18
1	34

* los pacientes incluyeron aquellos con HNSCC ≥ 2 L y NSCLC ≥ 2 L (ver **Ejemplo 2C**).

[0343] Se observó eficacia contra el cáncer en pacientes con HNSCC en pacientes con respuesta evaluable. La actividad clínica se basó en la respuesta evaluada por el investigador utilizando los criterios RECIST 1,1 (EA Eisenhower, *et ál.*, European Journal of Cancer 45 (2009) 228–247). Entre los 10 pacientes que no habían recibido ningún inhibidor del punto de control (es decir, que no habían recibido tratamiento previo con un inhibidor del punto de control inmunitario), la tasa de respuesta general (ORR) fue del 40 % (CI del 95 %: 12,2;73,8); la PFS mediana (mPFS) fue de 4,61 meses (CI del 95 %: 0,53; 7,53), y la supervivencia global mediana (mOS) no se había alcanzado con un seguimiento mediano de 14,4 meses o un seguimiento de 17,9 meses. La tasa de control de la enfermedad (DCR) fue del 50 % (CI del 95 %: 18,7; 81,3): 4/10 de los pacientes sin tratamiento previo con inhibidores de puntos de control lograron una respuesta parcial («PR») (2 confirmados); 2/10 lograron enfermedad estable («SD»); y 4 demostraron enfermedad progresiva («PD»). La duración de la respuesta (DOR) fue de 4,31 meses. Entre los 10 pacientes que experimentaron inhibidores de puntos de control (es decir, que habían recibido tratamiento previo con un inhibidor de puntos de control inmunológico), la ORR fue de 0 %; la mPFS fue de 2,0 meses [CI del 95 %: 0,9; 3,6] y la mOS como 7,4 meses (CI del 95 %: 3,1; NC). 3 pacientes en el subgrupo con experiencia con inhibidores de puntos de control lograron SD y 7 demostraron PD. Ver la **Figura 9A**, que muestra la actividad clínica de la combinación de Fármaco A + pembrolizumab en pacientes con respuesta evaluable, y la **Figura 9B**, que muestra la mejor respuesta global y duración de la respuesta en pacientes con HNSCC ≥ 2 L tratados con Fármaco A y pembrolizumab. Los detalles adicionales con respecto a ORR, DCR, DOR, mPFS y mOS para todos los pacientes (es decir, tanto el inhibidor de punto de control experimentado como el inhibidor de punto de control sin experiencia) se proporcionan en la **Figura 9A**.

[0344] Se observó una ocupación total de objetivo CD47 periférico y un aumento de las células inmunitarias infiltrantes en las biopsias de tumores. Estos datos confirman la actividad clínica del tratamiento combinado de Fármaco A + pembrolizumab en pacientes con HNSCC sin tratamiento previo

con inhibidores de puntos de control avanzados (incluidos los pacientes negativos para PD-L1). La actividad clínica se compara favorablemente con los controles históricos, a saber, la experiencia de pembrolizumab como agente único. Los análisis preliminares de biomarcadores sugirieron que los niveles iniciales de expresión génica CD47 y SIRPα y células CD8⁺, células CD68⁺ y células CD163⁺ infiltrantes de tumores, no están asociados con la respuesta tumoral medida por el % de cambio del tamaño de la lesión diana con respecto al valor inicial.

Ejemplo 2C: Resultados adicionales de un estudio de fase 1 del Fármaco A en combinación con pembrolizumab en pacientes con NSCLC ≥ 2 L que progresaron con la terapia previa con inhibidores de puntos de control

[0345] Como se describe en el **Ejemplo 1**, 20 pacientes con NSCLC ≥ 2 L recibieron el Fármaco A en combinación con pembrolizumab. 17 habían progresado con la terapia previa con inhibidores de puntos de control y 3 de los pacientes no habían recibido ningún inhibidor de puntos de control. Las características iniciales de todos los pacientes que recibieron el Fármaco A + pembrolizumab (incluidos los que estaban siendo tratados por HNSCC) se muestran en la **Tabla G** anterior. La actividad clínica en pacientes con NSCLC se basó en la respuesta evaluada por el investigador utilizando los criterios RECIST 1.1. La tasa de respuesta global (ORR) fue del 5 % (CI del 95 %: 0,1; 24,9), con 1 paciente que logró una respuesta parcial (PR), 9 pacientes que lograron una enfermedad estable (SD) y 10 pacientes que demostraron una enfermedad progresiva (PD). El paciente que alcanzó PR inicialmente exhibió enfermedad progresiva, seguida de enfermedad estable y posterior respuesta parcial. El paciente que alcanzó PR tuvo una puntuación de proporción tumoral del 0 %. La tasa de control de la enfermedad (DCR) fue del 35 % (CI del 95 %: 15,4, 59,2). La supervivencia libre de progresión mediana fue de 2,01 meses (CI del 95 %: 1,88, 5,56) y la supervivencia global mediana fue de 9,11 meses (CI del 95 %: 7,17, NC). Ver la **Figura 10A**, que muestra la actividad clínica de la combinación de Fármaco A + pembrolizumab en pacientes NSCLC ≥ 2 L con respuesta evaluable, y la **Figura 10B**, que muestra la mejor respuesta global y duración de la respuesta en pacientes con NSCLC ≥ 2 L tratados con Fármaco A y pembrolizumab.

[0346] Estos datos confirman la actividad clínica del tratamiento combinado de Fármaco A + pembrolizumab en pacientes con NSCLC ≥ 2 L, incluidos aquellos que son resistentes/refractarios a la terapia previa con inhibidores de puntos de control. Los análisis preliminares de biomarcadores sugirieron que los niveles iniciales de expresión génica CD47 y SIRPα y células CD8⁺, células CD68⁺ y células CD163⁺ infiltrantes de tumores, no están asociados con la respuesta tumoral medida por el % de cambio del tamaño de la lesión objetivo con respecto al valor inicial.

Ejemplo 2D: Resultados adicionales de un estudio de fase 1 del Fármaco A en combinación con trastuzumab en pacientes con cáncer gástrico/GEJ positivo para HER2 $\geq 2L$

[0347] Como se describe en el **Ejemplo 1**, 25 pacientes con cáncer gástrico HER2⁺ o cáncer gastroesofágico HER2⁺ $\geq 2L$ recibieron el Fármaco A en combinación con trastuzumab. Las características iniciales de todos los pacientes que recibieron el Fármaco A + trastuzumab se muestran en la **Tabla H** a continuación:

Tabla H: Características iniciales

	Fármaco A + Trastuzumab N=30
Enfermedad primaria, n	
Pulmón	–
HNSCC	–
Gástrico/GEJ	25
Esofágico	
Mama	2
Colorrectal	–
Ovárico	1
Pancreático	1
Apendicular	–
Sarcoma	–
Urotelial	1
Desconocido	–
Edad media	
Años (rango)	60 (45-79)
Sexo, n	
M	21
F	9

	Fármaco A + Trastuzumab N=30
Raza, n	
Blanco	13
Asiático	14
Afrodescendiente	1
Otros	2
ECOG PS, n	
0	11
1	19

[0348] La actividad clínica en pacientes con cáncer gástrico/cáncer GEJ se basó en la respuesta evaluada por el investigador utilizando los criterios RECIST 1.1. Se observó eficacia contra el cáncer en pacientes con respuesta evaluable. La ORR fue del 21,1 % (CI del 95 %: 6,1; 45,6), la mPFS fue de 2,2 meses (CI del 95 %: 1,9; 5,4), la mOS fue de 11,5 meses (CI del 95 %: 3,36; 14,0). Entre los 19 pacientes con respuesta evaluable, 4 lograron una respuesta parcial (3 confirmados); 5 lograron enfermedad estable y 10 demostraron enfermedad progresiva. La tasa de control de la enfermedad (DCR) fue del 26,3 % (IC del 95 %: 9,1; 51,2) y la duración de la respuesta fue de 9,38 meses. Consulte la **Figura 11A**, que muestra la actividad clínica de la combinación de Fármaco A + trastuzumab en pacientes con cáncer gástrico HER2⁺ $\geq$ 2L o con cáncer GEJ HER2⁺ $\geq$ 2L de respuesta evaluable y la **Figura 9B**, que muestra la mejor respuesta general y duración de la respuesta en pacientes con cáncer gástrico HER2⁺ $\geq$ 2L o con cáncer GEJ HER2⁺ $\geq$ 2L tratados con el Fármaco A y trastuzumab.

[0349] Se observó una ocupación total de objetivo CD47 periférico y un aumento de las células inmunitarias infiltrantes en las biopsias de tumores. Estos datos confirman la actividad clínica del tratamiento combinado de Fármaco A + trastuzumab en pacientes con cáncer gástrico o gastroesofágico HER2⁺ que han progresado con terapias previas dirigidas a HER2. La actividad clínica se compara favorablemente con los controles históricos. Los análisis preliminares de biomarcadores sugirieron que los niveles iniciales de expresión génica CD47 y SIRP α y células CD8⁺, células CD68⁺ y células CD163⁺ infiltrantes de tumores, no están asociados con la respuesta tumoral medida por el % de cambio del tamaño de la lesión objetivo con respecto al valor inicial.

Ejemplo 2E: Resultados adicionales de un estudio de fase 1 del Fármaco A en combinación con rituximab en pacientes con linfoma no Hodgkin

[0350] Este ejemplo proporciona más resultados del estudio clínico del perfil de seguridad del Fármaco A y la actividad antitumoral en combinación con rituximab con histologías agresivas e indolentes de linfoma no Hodgkin (NHL), como se describe en el **Ejemplo 1**.

[0351] Los pacientes inscritos en el estudio tenían ≥ 18 años de edad y tenían NHL de células B positivo para CD20 recidivante o refractario para el cual no se disponía de terapia curativa o presentaban recaída o resistencia a las terapias estándar aprobadas. Se requería que los pacientes tuvieran función orgánica adecuada y hemoglobina ≥ 8 g/dL; recuento absoluto de neutrófilos $\geq 1.000/\text{mm}^3$ y plaquetas $\geq 50.000/\text{mm}^3$. Se excluyeron los pacientes que habían recibido tratamiento previo con cualquier agente anti-CD47 o anti-SIRP α .

[0352] Los pacientes recibieron el Fármaco A (10 mg/kg QW o 15 mg/kg QW) en combinación con rituximab (375 mg/m² semanales para 4 dosis seguido de una vez al mes para 8 dosis). El criterio de valoración principal para la población de confirmación de seguridad fue la toxicidad limitante de la dosis del primer ciclo (DLT). En todos los pacientes se evaluó la respuesta tumoral (utilizando los criterios de respuesta del Lugano Working Group 2014 en el NHL), los eventos adversos (caracterizados mediante NCI CTCAE v 4,03), marcadores farmacocinéticos (PK) y farmacodinámicos (PD).

[0353] A 33 pacientes con NHL (23 hombres, 10 mujeres; mediana de líneas de terapia previas = 3) se les administró el Fármaco A en combinación con rituximab. 22 pacientes (11 con linfoma difuso de células B grandes (DLBCL); 4 con linfoma de células del manto (MCL); 5 con linfoma folicular (FL); y 2 con linfoma de zona marginal (MZL)) recibieron el Fármaco A 10 mg/kg QW + rituximab, y 11 pacientes (6 con DLBCL; 1 con MCL; 3 con FL; y 1 con MZL) recibieron el Fármaco A 15 mg/kg QW + rituximab. Las características iniciales de los pacientes se muestran en la **Tabla I**, y la exposición y disposición del fármaco por parte de los pacientes se muestran en la **Tabla J**.

Tabla I: Características iniciales de los pacientes que recibieron el Fármaco A + rituximab para el NHL

	Fármaco A (10 mg/kg QW) + Rituximab (N=22)	Fármaco A (15 mg/kg QW) + Rituximab (N=11)
Enfermedad primaria, n		
Folicular	5	3
Zona marginal	2	1
DLBCL	11	6
Células del manto	4	1
Edad media		
Años (rango)	66 (32-80)	64 (53-78)
Sexo, n		
M	17	6
F	5	5
Raza, n		
Asiático	18	9
Blanco	4	2
ECOG PS, n		
0	7	2
1	15	8

Tabla J: Exposición y disposición de fármaco del paciente

	Fármaco A + Rituximab	
	Fármaco A 10 mg/kg (N=22)	Fármaco A 15 mg/kg (N=11)
Reducciones de dosis, n	0	0
Interrupción debido a TRAE	1^	0
Interrupción debido a PD	12	4
Interrupción por muerte	2*	0

Interrupción debido a otros	1	1
Tratamiento continuo	6	6

^Interrupción debido a una reacción a la infusión de rituximab; *Muerte por progresión de la enfermedad.

[0354] Ningún paciente requirió una reducción de la dosis y la razón más común para la interrupción del tratamiento fue la progresión de la enfermedad.

- 5 **[0355]** El Fármaco A en combinación con rituximab fue bien tolerado y la mayoría de los eventos adversos relacionados con el tratamiento (TRAE) fueron de bajo grado y baja frecuencia. Veintiséis (78,8 %) pacientes experimentaron algún evento adverso. Quince (45,5 %) pacientes experimentaron algún TRAE. El TRAE más común del Fármaco A en combinación con rituximab fue sarpullido de grado 1-2 (18 %), fatiga (9 %, n = 3), anemia (6 %, n = 2), náuseas (6 %, n = 2) y neutropenia (6 %, n = 2).
- 10 Los TRAE de gravedad $\geq$ Grado 3 fueron de baja frecuencia (ver **Tabla K**). No se informaron eventos adversos graves relacionados con el tratamiento. Hubo 2 muertes en el estudio, ambas debido a la progresión de la enfermedad.

Tabla K. Eventos adversos relacionados con el tratamiento

Evento adverso	Total N (%)	$\geq$ Grado 3
Sarpullido	6 (18 %)	—
Fatiga	3 (9 %)	—
Náuseas	2 (6 %)	—
Disminución del recuento de neutrófilos	2 (6 %)	2 (6 %)
Anemia	2 (6 %)	1 (3 %)

15 **[0356]** No se informaron toxicidades limitantes de la dosis del Fármaco A. La dosis máxima tolerada (MTD) del Fármaco A en combinación con rituximab no se alcanzó. La dosis máxima administrada del Fármaco A (es decir, administrada en combinación con rituximab) fue de 15 mg/kg QW. No se observó una relación significativa entre exposición y citopenia en el intervalo de exposición al Fármaco A

20 evaluado (10 mg/kg QW - 15 mg/kg QW).

[0357] Se observó actividad antitumoral en todas las histologías en pacientes evaluables en respuesta con histologías agresivas recidivante/refractarias (es decir, DLBCL y MCL) e histologías indolentes recidivante/refractarias (es decir, FL y MZL). Las respuestas se evaluaron de acuerdo con los criterios de respuesta de Lugano 2014 (ver Cheson *et ál.* (2014) «Recommendations for Initial Evaluation, Staging and Response Assessment of Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification. » *J. Clin Oncol.* 32: 3059-3067). Como se muestra en la **Tabla L** y la **Figura 12**, la tasa de respuesta global (ORR) entre los pacientes tratados con 10 mg/kg QW de Fármaco A + rituximab fue del 40,9 %. 3 pacientes (es decir, uno con linfoma de células del manto (MCL), uno con linfoma folicular (FL) y uno con MZL) lograron una respuesta completa (CR), 6 pacientes (dos con linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), dos con MCL y dos con FL) lograron respuesta parcial (PR). 6 pacientes (dos con DLBCL, uno con MCL, dos con FL y uno con MZL) demostraron enfermedad estable (SD). La ORR entre los pacientes tratados con 15 mg/kg QW de Fármaco A + rituximab fue 54,6 % de ORR. 2 pacientes (ambos con FL) lograron CR. 4 pacientes (uno con MZL, dos con DLBCL y uno con MCL) lograron PR. 1 paciente (con FL) demostró SD. Consulte la **Tabla L a** continuación y la **Figura 12**. En la **Figura 13A** se proporcionan más detalles sobre la duración del tratamiento para los pacientes a los que se les administró 10 mg/kg de Fármaco A + rituximab, y en la **Figura 13B** se proporcionan más detalles sobre la duración del tratamiento para los pacientes a los que se les administró 15 mg/kg de Fármaco A + rituximab.

Tabla L: Combinación de Fármaco A + Rituximab: actividad clínica en pacientes con respuesta evaluable

Población Dosis de Fármaco A	N	ORR (CI del 95 %)	DOR mediana (CI del 95 %)	PFS mediana (CI del 95 %)	OS mediana (CI del 95 %)	Seguimiento mediano (CI del 95 %)
NHL (10 mg/kg de ALL)	22	40,9% (23,3; 61,3)	NC	7,4 (1,9; 13,2)	NC	11,3 (10,2; 15,2)
NHL (10 mg/kg agresivo)	15	33,3 % (15,2; 58,3)	5,6 (1,8; NC)	2,5 (1,0; 7,4)	8,9 (2,5 ; NC)	10,4 (9,5; 15,2)
NHL (10 mg/kg indolente)	7	57,1% (25,1; 84,2)	NC	NC	NC	11,3 (7,8; 20,4)

Población Dosis de Fármaco A	N	ORR (CI del 95 %)	DOR mediana (CI del 95 %)	PFS mediana (CI del 95 %)	OS mediana (CI del 95 %)	Seguimiento mediano (CI del 95 %)
NHL (15 mg/kg de ALL)	11	54,6% (28,0; 78,7)	NC	NC	NC	5,1 (4,0; 5,6)
NHL (15 mg/kg agresivo)	7	42,9 % (15,8; 75,0)	NC	1,9 (1,1; NC)	NC	4,7 (4,0; 5,4)
NHL (15 mg/kg indolente)	4	75 % (30,1; 95,4)	NC	NC	NC	5,9 (3,5; 7,4)

Agresivo = DLBCL refractario recidivante o linfoma de células del manto refractario recidivante;

Indolente = linfoma folicular refractario recidivante o linfoma de zona marginal refractario recidivante;

ORR = tasa de respuesta objetiva (respuesta completa + respuesta parcial); **mDOR** = duración

5 mediana de la respuesta (meses); **mPFS** = supervivencia libre de progresión mediana (meses);

mSeguimiento = seguimiento mediano (meses); **NC** = no se pudo calcular.

[0358] En todo el intervalo de exposición evaluado (10 mg/kg QW - 15 mg/kg QW), se observó una mayor exposición al Fármaco A en sujetos con una mejor respuesta de CR y PR en comparación con los sujetos con una mejor respuesta de SD y PD. Se observó una farmacocinética favorable del Fármaco A y la ocupación del receptor CD47 a lo largo del intervalo de dosificación.

[0359] El Fármaco A en combinación con regímenes estándar de rituximab fue bien tolerado con un perfil de seguridad hematológico favorable y no se alcanzó la dosis máxima tolerada. La dosis máxima administrada fue de 15 mg/kg QW (equivalente molar a 30 mg/kg QW de un anticuerpo) sin que se observara anemia, trombocitopenia o neutropenia dependiente de la exposición en todo el rango de exposición evaluado. El Fármaco A demuestra una actividad anticancerígena emergente con respuestas duraderas en combinación con rituximab en pacientes con NHL recidivante/refractario cuyos tumores han progresado con terapias previas dirigidas a CD20 que se comparan favorablemente con los controles históricos. Los datos preliminares sugieren que el Fármaco A se tolera bien y que se observa una mayor exposición al Fármaco A en los respondedores frente a los no respondedores.

[0360] Cada realización aquí descrita puede combinarse con cualquier otra realización o realizaciones a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica o

realización indicada como preferida o ventajosa puede combinarse con cualquier otra característica o características o realización o realizaciones indicadas como preferidas o ventajosas, a menos que se indique claramente lo contrario.

[0361] Todas las referencias citadas en esta solicitud se incorporan expresamente como referencia
5 en el presente documento.